

UNIVERSITÉ DE NANTES

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE NANTES

ANNÉE 1965-1966

N° 4

Première Thèse :

**NOUVELLES MÉTHODES DE DOSAGE DES ALCALOÏDES
A L'AIDE DES COLORANTS DÉRIVÉS
DE LA PHÉNOLSULFONEPHTALÉINE**

**APPLICATION A L'ETUDE DES VARIATIONS DU TAUX DES GLUCO-ALCALOIDES
DANS DIVERS SOLANUM**

Deuxième Thèse :

Propositions données par la Faculté

MENTION TRÈS HONORABLE

avec félicitations du jury,

proposition d'impression aux frais

de l'Etat et avis favorable pour

l'échange avec les Universités

et les Facultés étrangères

THÈSE

pour l'obtention du grade de

DOCTEUR D'ÉTAT EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

par

Albert FAUCHER

né le 9 Août 1935 à AVRILLÉ (M.-&-L.)

Pharmacien

Licencié ès Sciences

Assistant à la Faculté et au C.H.U.

1965

Membres du Jury : Monsieur le Professeur MONNET, Président
Monsieur le Professeur PLOQUIN, Juge
Monsieur le Professeur FOUCAUD, Juge

UNIVERSITÉ DE NANTES

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE NANTES

ANNÉE 1965-1966

N° 4

Première Thèse :

**NOUVELLES MÉTHODES DE DOSAGE DES ALCALOÏDES
A L'AIDE DES COLORANTS DÉRIVÉS
DE LA PHÉNOLSULFONEPHTALÉINE**

**APPLICATION A L'ETUDE DES VARIATIONS DU TAUX DES GLUCO-ALCALOÏDES
DANS DIVERS SOLANUM**

Deuxième Thèse :

Propositions données par la Faculté

MENTION TRÈS HONORABLE

avec félicitations du jury,
proposition d'impression aux frais
de l'Université et avis favorable pour

THÈSE

pour l'obtention du grade de **échange avec les Universités
et les Facultés étrangères**

DOCTEUR D'ÉTAT EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

par

Albert FAUCHER

né le 9 Août 1935 à AVRILLÉ (M.-&-L.)

Pharmacien

Licencié ès Sciences

Assistant à la Faculté et au C.H.U.

Membres du Jury : Monsieur le Professeur MONNET, Président
Monsieur le Professeur PLOQUIN, Juge
Monsieur le Professeur FOUCAUD, Juge

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE

NANTES

Doyen Honoraire de la Faculté M. AUVIGNE
Professeurs Honoraires de l'Ecole de Plein Exercice
de l'Ecole Nationale et de la Faculté :

MM. DALLONGEVILLE, GUERITHAULT, GUEGUEN, PICARD, LEROUX

Doyen : M. Y. BOQUIEN

Assesseurs : MM. R. MONNET

J. P. KERNEIS

PROFESSEURS TITULAIRES DE CHAIRES

MM.

Y. BOQUIEN

Clinique Médicale B

R. BUREAU

Clinique Chirurgicale Infantile et
Orthopédique

Y. BUREAU

Clinique Dermatologique

J. DELAIRE

Clinique Stomatologique

A. FOUCAUD

Botanique

H. GIROIRE

Clinique Neurologique

J. GRISLAIN

Clinique Médicale Infantile

R. GUIHARD

Physique

J. GUILLON

Pathologie Médicale

J. HOREAU

Clinique Médicale A

P. HOULNE

Obstétrique

J.P. KERNEIS

Anatomie Pathologique

J. LEGRAND

Clinique Ophtalmologique

E.P. LOSSOUARN

Chimie Pharmaceutique

P. MALVY

Pathologie Chirurgicale

Ch. MIRALLIE

Clinique Traumatologique

R. MONNET

Matière Médicale et Pharmacologie

M. MOUSSEAU

Clinique Chirurgicale

M. NEDELEC

Clinique Urologique

P. PERRIN

Médecine Sociale et Médecine du Travail

J. PLOQUIN

Pharmacie Chimique

M. ROUZET

Pharmacie Galénique

Y. STEPHAN

Pharmacodynamie et Chimie Biologique

J. TUSQUES

Histologie

P. VERAN

Thérapeutique

C. VERMEIL

Parasitologie et Pathologie Exotique

F. VIOLETTE

Physiologie

PROFESSEURS TITULAIRES A TITRE PERSONNEL

MM.

L. DUMORTIER

Médecine Légale et Médecine du Travail

F. GILLOT

Pédiatrie

P. MINICONI

Médecine Générale

Mme. MUSSINI_MONTPELLIER Anatomie Pathologique
(détachée à ALGER)

M.E. PICHAT

PROFESSEUR SANS CHAIRE
Anatomie

MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES

MM.

J. BARBIN	Anatomie
F. BARON	O.R.L.
S. BERNARD	Biochimie Médicale
H. BOITEAU	Toxicologie
J. CORROLLER	Pneumo-Phtisiologie
S. COTTIN	Thérapeutique
A. COURTIEU (f.f.)	Bactériologie
A. GAILLARD	Stomatologie
D. GUIHARD	Physique
Ch. MOIGNETEAU	Pneumo-Phtisiologie
Ch. ROUSSEAU (f.f.)	Sciences Naturelles
R. SENELAR	Histologie
L. WELIN (f.f.)	Pharmacodynamie

AGREGES EN EXERCICE

MM.

J. AUVIGNE	Urologie
H. BARRIERE	Dermatologie
A. CHARBONNEL (f.f.)	Neurologie
H. DUPONT (f.f.)	Pathologie Chirurgicale
J. GOUIN	Orthopédie
J. GUENEL	Médecine Générale
D. HERVOUET (f.f.)	Médecine Générale
F. HERVOUET	Ophthalmologie
M. DURY	Médecine Générale
A. SILVESTRE DE FERRON	Chirurgie Générale
J. SOURDILLE	Chirurgie Générale

CHARGES DE COURS

MM.

L. CORMAN	Psychiatrie
P. JARDIN	Législation et Déontologie Pharmaceutique
F. MONNIER	Hydrologie Pharmaceutique

Secrétaire de la Faculté : M. E. BOULESTEIX

Conservateur de la Bibliothèque
de l'Université : Mme GALKOWSKI

Vu, le Président de Thèse
R. MONNET

Vu, le Doyen de la Faculté de
Médecine et de Pharmacie de NANTES
Y. BOQUIEN

Vu et permis d'imprimer
Le Recteur de l'Académie
M. SCHMITT

A MES PARENTS

A MA FEMME ET A MON FILS

A MES BEAUX-PARENTS

A MA FAMILLE ET A MES AMIS

en témoignage de ma profonde affection

A Monsieur le Professeur BOQUIEN
Professeur de Clinique Médicale
Médecin Chef de service au Centre Hospitalier Universitaire
Doyen de la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie

Vous avez bien voulu nous accueillir
dans votre laboratoire hospitalier ;
vous nous avez toujours porté un
bienveillant intérêt.

Nous vous adressons l'hommage de
nos sentiments respectueux.

A notre Président de Thèse

Monsieur le Professeur MONNET

Professeur de Matière Médicale et de Pharmacologie

Biologiste Chef de service au Centre Hospitalier Universitaire

Assesseur du Doyen

Il nous a accueilli dans son laboratoire et nous a inspiré le sujet de cette Thèse. Au cours de notre travail il nous a prodigué conseils et encouragements nous laissant une grande initiative dont nous le remercions.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre profonde gratitude, de notre respectueux dévouement et le témoignage de notre fidèle attachement.

A Monsieur le Professeur PLOQUIN
Professeur de Pharmacie Chimique

Par son enseignement clair
et précis il nous a fait ai-
mer la Chimie Organique.

Il nous a toujours réservé
un accueil extrêmement bien-
veillant dans son laboratoi-
re, et nous a fréquemment ai-
dé de ses conseils.

Qu'il soit assuré de notre
gratitude et de notre pro-
fond respect.

A Monsieur le Professeur FOUCAUD
Professeur de Botanique et de Cryptogamie

Il a suivi avec intérêt notre travail et nous a fait bénéficier de ses conseils.

Nous le remercions d'avoir bien voulu accepter de faire partie de notre jury de Thèse, et nous lui exprimons nos sentiments de respectueuse gratitude.

A Messieurs les Professeurs BALLET (in memoria), DALLONGE-
VILLE, STEPHAN, LOSSOUARN, LE POLLES (in memoria), BUUDENE,
LE MINOR.

A Messieurs CHENEAU, BRUNEAU, JARDIN, MONNIER.

pour leur précieux enseigne-
ment, pour la sympathie qu'ils
nous ont témoignée pendant
nos études et pour l'aide
qu'ils nous ont apportée au
cours de ce travail.

Avec toute notre gratitude.

A Mademoiselle Le Professeur Germaine DEBRAUX
Professeur de Biologie Végétale
et

A Mademoiselle ASTIER
Chef de Travaux de Biologie Végétale
à la Faculté des Sciences de NANTES

en remerciement de tout ce
qu'elles ont fait pour nous
et de l'intérêt qu'elles
ont porté à cette Thèse.

A nos Professeurs de la Faculté des Sciences de RENNES

Hommage respectueux.

A Messieurs les Professeurs agrégés :

BERNARD, Maître de Conférences agrégé
de Biochimie Médicale

Biologiste des Hôpitaux

BOITEAU, Maître de Conférences agrégé de Toxicologie

que nous remercions de leurs
conseils et de leurs encou-
ragements.

A Monsieur le Docteur ROUSSEAU

Chargé des fonctions de Maître de Conférences
agrégé de Zoologie

en remerciement de l'aima-
ble accueil qu'il nous a
toujours réservé dans son
laboratoire.

A Madame POISBEAU

Chef de Travaux de Microbiologie et de Parasitologie

pour son enseignement, pour
la sympathie qu'elle nous a
toujours portée, pour les
encouragements qu'elle nous
a prodigués dans les moments
difficiles ;

faible témoignage de notre
reconnaissance et de notre
respectueuse affection.

A Monsieur DROUARD

Pharmacien

Président du Conseil Régional de l'Ordre des Pharmaciens

Assistant à la Faculté

Il a été notre maître de stage. Nous n'oublierons jamais son dévouement et sa bonté à notre égard.

A Madame GAULTIER-LASSAUSSE

Pharmacien-Chef de Laboratoire

au Centre Hospitalier Universitaire de NANTES

pour l'intérêt qu'elle nous a témoigné ;

Sentiments respectueux

A Madame GALKOWSKI

Conservateur

et au Personnel de la Bibliothèque Universitaire, dont
l'aide et la serviabilité nous ont très utiles au cours
de nos recherches bibliographiques.

A Monsieur BOULESTEIX

Secrétaire Principal de la Faculté

qui nous a facilité la réa-
lisation de ce travail.

A Monsieur GLOTTIN

Directeur du Jardin des Plantes

qui nous a aidé de ses
connaissances de la flo-
re régionale ;

Avec nos remerciements.

A Monsieur WELIN, chargé des fonctions de Maître de Conférences agrégé,

A Mesdames de ROECK-HOLTZAUER, PLANTARD, MAINARD et BALLE-
REAU, Monsieur REVEILLERE, Chefs de Travaux.

A Mesdames MORE et GARNIER, à Mesdemoiselles LE CAM et
GUILLON, à Messieurs MORE, LANDREAU, CORNETEAU, CORNU,
GIROD, MOUSSION, MADEC, DUBIN, BOUJU, Assistants à la
Faculté.

et à tous nos collègues et
amis de la Faculté et de
l'Hôpital dont l'aide nous
a été précieuse, en témoignage
de profonde amitié.

A Mademoiselle BOUSSICAULT, Messieurs ORTEGA et LE BOTERFF, dont la collaboration technique consciencieuse et dévouée nous a été extrêmement précieuse ; à Madame MOUILLE, Secrétaire Médicale, pour le soin qu'elle a apporté à la présentation de cette Thèse.

nous les remercions vivement.

INTRODUCTION



Une plante à alcaloïdes contient dans chacun de ses organes plusieurs alcaloïdes, de structures voisines en général, dont les actions pharmacodynamiques diffèrent sensiblement dans leur intensité voire dans leurs modalités. Le contenu alcaloïdique des divers organes d'une plante varie qualitativement et quantitativement au cours de la végétation; ces variations peuvent être influencées par différents facteurs écologiques (nature du sol, climat, insolation, parasitisme, etc.). L'étude systématique des variations du stock alcaloïdique peut guider le choix des méthodes de culture, des organes à récolter et de la période de la récolte, afin d'obtenir des préparations présentant une activité optimum ou de pouvoir extraire l'un des alcaloïdes lorsque son taux est le plus élevé. Cette dernière éventualité est intéressante par exemple pour certains *Solanum* dont les gluco-alcaloïdes peuvent servir à l'hémisynthèse d'hormones stéroïdiques.

En outre, la connaissance des variations saisonnières du stock alcaloïdique des organes d'une plante donne des informations sur la génèse et le métabolisme propre des alcaloïdes, ainsi que sur leur rôle dans le métabolisme général de la plante. Cela est particulièrement intéressant pour les glucocalcaloïdes, dont la molécule comporte, à côté d'un aglucone stéroïdique, une chaîne glucidique dont le rôle biochimique n'a pas été éclairci.

Enfin il peut être intéressant de suivre, chez certaines plantes, cultivées à des fins alimentaires, la réapparition sous l'influence de certains facteurs écologiques d'alcaloïdes toxiques que la sélection avait fait disparaître : tel est le cas de certains *Solanum*, comme la Tomate, l'Aubergine et surtout la Pomme de Terre.

Pour doser de petites quantités d'alcaloïdes dans de faibles échantillons des différents organes d'une plante, il faut une micro-méthode très sensible et suffisamment précise pour que les erreurs soient négligeables devant les variations de teneurs étudiées ; la méthode doit également être sélective afin que soient réduites au minimum les opérations de purification des alcaloïdes avant leur dosage.

Il nous a semblé que la protométrie en milieu non aqueux pouvait servir de base à des méthodes remplissant les conditions requises. Pour la recherche de telles méthodes, nous avons utilisé les données récentes sur la quantitativité des réactions, en fonction des propriétés acido-basique et du pouvoir dissociant du solvant d'une part, en fonction des positions relatives des substances réagissantes sur une échelle unique d'acidité-basicité d'autre part. A partir de ces données, nous avons pensé que certains colorants diacides, dérivés de la phénolsulfonephtaléine, pouvaient, dans les solvants inertes, servir à la fois de réactif titrant, par leur fonction acide fort, et d'indicateur coloré par leur fonction acide faible.

Nous avons ainsi été amenés à étudier expérimentalement les réactions entre ces colorants et les différents alcaloïdes, à rechercher dans quelles limites elles pouvaient être utilisées pour les dosages envisagés et à appliquer les méthodes mises au point à l'étude des variations du taux des gluco-alcaloïdes de plusieurs espèces de *Solanum* aux différentes phases de la végétation.

P R E M I E R E P A R T I E

ETUDE DES REACTIONS ENTRE LES COLORANTS DERIVES DE LA

PHENOLSULFONEPHTALEINE ET LES ALCALOIDES

APPLICATION AU DOSAGE DE CES DERNIERS

C H A P I T R E I

ETUDE DE LA PRECISION ET DE LA SPECIFICITE
DES DOSAGES PROTOMETRIQUESA - INTRODUCTION

Depuis vingt ans, les méthodes de dosage acido-basimétrique en milieu non aqueux ont pris un essor considérable ; leur principe s'appuie sur la théorie de BRØNSTED, qui met en jeu des échanges de protons entre acides (donneurs) et bases (accepteurs). La théorie de LEWIS qui considère comme base tout corps susceptible de céder un doublet électronique, et comme acide tout corps capable de fixer un même doublet, élargit en principe la théorie de BRØNSTED ; elle peut cependant prêter à confusion, car la nature de la liaison entre une base et un "acide" de LEWIS peut être différente de celle qui s'établit entre la même base et le proton H^+ . Aussi, nous nous contenterons de la définition de BRØNSTED pour les acides et les bases, et nous grouperons les autres composés (sels) sous le nom de complexes, suivant ainsi la classification de CHARLOT {3, 4}.

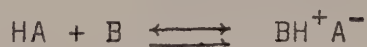
L'usage de solvants non aqueux élargit le champ de l'acido-basimétrie classique et permet de doser volumétriquement des composés insolubles dans l'eau, et de faire intervenir dans les réactions des acides plus forts que l'ion H_3O^+ ou des bases plus fortes que l'ion OH^- .

Le terme du dosage peut être apprécié par potentiométrie, ou à l'aide d'indicateurs colorés. La potentiométrie est la meilleure méthode sur le plan théorique, mais elle nécessite un laboratoire bien équipé, disposant de bons potentiomètres et d'un jeu étendu d'électrodes ; il est en effet préférable d'employer des électrodes spéciales

pour chaque solvant (36) . Avec les indicateurs colorés, le dosage est au contraire très abordable sur le plan pratique ; il suppose néanmoins un choix judicieux de l'acide ou de la base titrants d'une part, et de l'indicateur coloré d'autre part. L'usage des échelles d'acidité-basicité, en milieu dissociant ou peu dissociant, permet de guider ce choix.

B - SOLVANTS PEU DISSOCIANTS

Les solvants peu dissociants sont des composés de faible constante diélectrique ($\epsilon \leq 10$ environ) ; la plupart des solvants non miscibles à l'eau appartiennent à cette classe. Les réactions acides-bases dans un solvant non dissociant idéal se bornent à la formation de paires d'ions :



HA désignant l'acide et B la base ; l'équilibre est caractérisé par la constante de réaction :

$$K = \frac{(HA)(B)}{(BH^+A^-)}$$

On emploie en général le logarithme de l'inverse de ces constantes, ou pK, pour caractériser la force d'un acide par rapport à une base ou réciproquement :

$$pK = \log \frac{1}{K}$$

Si l'on mesure le pK d'un certain nombre d'acides par rapport à une base donnée, on obtient des valeurs d'autant plus élevées que ces acides sont plus forts. On peut classer

ces acides par ordre de pK croissants, établissant ainsi une échelle d'acidité. De même on peut constituer une échelle de basicité en comparant le pK d'un certain nombre de bases, vis-à-vis d'un même acide.

La différence $pK_1 - pK_2$ entre le pK de deux acides A_1 et A_2 vis-à-vis d'une même base est en général la même quelle que soit la base de référence choisie. La réciproque s'applique à la différence $pK'_1 - pK'_2$ entre les pK des deux bases B_1 et B_2 vis-à-vis d'un même acide. Ces différences restent en général inchangées quand on passe d'un solvant non dissociant à un autre. Le solvant peut simplement intervenir en limitant les échelles par son acidité ou par sa basicité propres ; on dit alors qu'il est "actif".

On peut grouper les échelles d'acidité et de basicité en une échelle unique (4, p. 30), où les acides et les bases sont classées par ordre de pK , la force des acides croissant vers le haut et celle des bases vers le bas. Tout acide peut réagir sur une base située plus bas que lui sur l'échelle avec un pK mesuré par la distance qui les sépare. Cette échelle unique, bien qu'approximative, permet en pratique de prévoir la quantitativité d'une réaction, et de choisir en vue d'un dosage volumétrique l'acide ou la base réactif titrant d'une part et l'indicateur coloré d'autre part.

§ I - Choix du réactif titrant

L'acide titrant doit être situé sur l'échelle à plusieurs unités pK plus haut que la base à titrer ; réciproquement, la base titrante doit être située à plusieurs unités pK plus bas que l'acide à titrer ; plus la distance qui sépare acide et base sur l'échelle est grande, plus le dosage gagne en précision, en présence d'un indicateur convenable. On choisit donc de préférence comme réactifs titrants

des acides forts, situés en haut de l'échelle : acide perchlorique, acide paratoluènesulfonique, acide chlorhydrique, acide trichloracétique, etc... ou des bases fortes, situées en bas de l'échelle : alcoolates de sodium ou de lithium, hydroxydes d'ammonium quaternaire, guanidines, etc...

Le pK entre le réactif titrant et la substance à titrer, représenté par la distance qui les sépare sur l'échelle, doit être d'autant plus grand que la concentration de cette substance est plus faible. Nous indiquons ci-après à titre d'exemple le pK, calculé en fonction de la concentration, nécessaire pour obtenir une neutralisation à 99 %.

<u>Concentration</u>	<u>pK</u>
M	4
10^{-1} M	5
10^{-2} M	6
10^{-3} M	7
10^{-4} M	8
10^{-5} M	9

§ II - Choix de l'indicateur coloré

Le choix de l'indicateur présente aussi une grande importance. Il conditionne la précision, la sensibilité et la spécificité du dosage.

Les indicateurs colorés employés en protométrie peuvent être de deux types : ou bien ils sont de même nature que la substance à doser, et leur changement de couleur est provoqué par leur combinaison avec un excès de réactif titrant (type I), ou bien ils sont de même nature que le réactif titrant, et leur changement de couleur est provoqué par la rupture de leur combinaison avec la substance à doser (type II). Dans tous les cas, ils doivent être placés sur

l'échelle d'acidité entre le réactif titrant et la substance à doser.

a) Influence de l'indicateur sur la précision du dosage

Indicateurs de type I

Ces indicateurs peuvent s'unir au réactif titrant avant la neutralisation complète de la substance à doser. Il y a alors erreur par défaut, d'autant plus importante qu'ils sont situés plus près de cette substance sur l'échelle unique.

Par contre, ils peuvent nécessiter, pour que leur changement de couleur soit perceptible, un excès important de réactif titrant, s'ils sont trop proches de celui-ci sur l'échelle unique. Il y a alors erreur par excès.

L'erreur totale, appelée "erreur d'indicateur", est la résultante de ces deux erreurs. Nous pouvons la définir comme la différence entre les concentrations molaires en réactif titrant et en substance à doser au moment du virage, exprimée en pourcentage par rapport à la concentration molaire de la substance à doser :

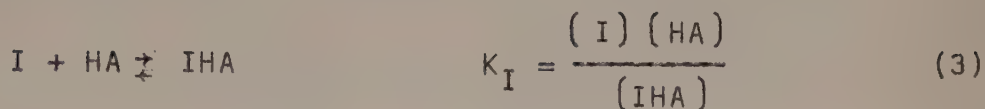
$$E = \frac{100 (x - c)}{c} \quad (1)$$

x est la concentration molaire en réactif titrant total et c la concentration molaire en substance à doser totale, au moment du virage.

$E > 0$, si $x > c$; l'erreur est par excès.

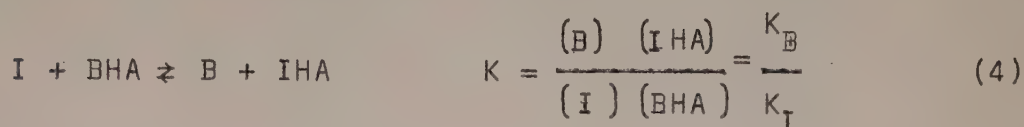
$E \leq 0$, si $x < c$; l'erreur est par défaut.

Supposons que nous dosions une base B par un acide HA en présence d'un indicateur basique I. Les réactions sont les suivantes :



$$K_I > K_B \quad \text{ou} \quad pK_B > pK_I$$

Il peut y avoir réaction d'échange :



$$pK = pK_B - pK_I$$

Désignons par :

- $(HA)_V$, $(B)_V$, $(BHA)_V$, $(I)_V$, $(IHA)_V$ les concentrations molaires respectives en HA libre, B libre, BHA, I, IHA au moment du virage ;
- i la concentration molaire en indicateur total au même moment ;
- D_1 la densité optique limite de la forme colorée de l'indicateur correspondant à la perception du virage ;
- ϵ le coefficient d'absorption molaire de cette forme colorée.

Pour une valeur donnée de c , la relation (1) permet de calculer E si l'on connaît x :

$$x = (BHA)_V + (HA)_V + (IHA)_V \quad (5)$$

$$(IHA)_V = \frac{D_1}{\epsilon} \text{ d'après la loi de BEER}$$

$(HA)_V$ est donné par la relation (3)

$$(HA)_V = K_I \frac{(IHA)_V}{(I)_V} = K_I \frac{D_1}{\epsilon i - D_1}$$

$(BHA)_V$ est donné par la relation (4)

$$(BHA)_V = \frac{K_I}{K_B} \frac{(IHA)_V (B)_V}{(I)_V} = \frac{K_I}{K_B} \frac{D_1 (c - (BHA)_V)}{\epsilon (i - \frac{D_1}{\epsilon})}$$

$$(BHA)_V = \frac{\frac{K_I}{K_B} D_1 c}{(i - \frac{D_1}{\epsilon}) + \frac{K_I}{K_B} D_1}$$

La relation (5) devient donc :

$$x = \frac{\frac{K_I}{K_B} D_1 c}{\epsilon (i - \frac{D_1}{\epsilon}) + \frac{K_I}{K_B} D_1} + K_I \frac{D_1}{\epsilon i - D_1} + \frac{D_1}{\epsilon} \quad (6)$$

Le premier terme du second membre de cette égalité varie avec la concentration de la base à doser, celle de l'indicateur et la distance $\Delta pK = pK_B - pK_I$ qui sépare l'indicateur et la base à doser sur l'échelle unique. Il correspond à l'erreur par défaut.

Le second terme dépend de la concentration en indicateur et de la distance pK_I qui sépare celui-ci de l'acide titrant sur l'échelle unique. Il correspond à l'erreur par excès. Nous avons calculé l'erreur globale E pour différentes valeurs de pK_I et de ΔpK en attribuant respectivement à D_1 et ϵ les valeurs $0,05$ et $5 \cdot 10^4$, voisines des valeurs expérimentales mesurées au cours de notre étude.

Les résultats sont réunis sur les tableaux et les courbes I, II et III (figure 1) :

I	:	$c = 10^{-3}$	, $i = 10^{-5}$
II	:	$c = 10^{-2}$	, $i = 10^{-5}$
III	:	$c = 10^{-3}$	, $i = 10^{-4}$

La variation de E est la même lorsque l'on décuple la concentration d'un indicateur basique I_1 de type I que lorsqu'on le remplace, à concentration égale, par un indicateur I_2 placé un échelon plus bas sur l'échelle unique (Cf tableaux I et III). Pour un acide titrant très fort, le dosage gagne donc en précision lorsqu'on diminue la concentration en indicateur.

La formule (6) et les tableaux I, II et III sont applicables au dosage d'un acide HA par une base B en présence d'un indicateur acide HI ; il suffit de remplacer pK_I par pK_{HI} , distance qui sépare indicateur et base titrante sur l'échelle unique, et de poser $\Delta pK = pK_{HA} - pK_{HI}$, distance qui sépare acide à doser et indicateur sur l'échelle.

Indicateurs de type II

De même nature que le réactif titrant, ces indicateurs s'unissent à la substance à doser. Si l'indicateur est situé trop près de cette substance sur l'échelle unique, le virage est perçu avant le point d'équivalence ; il y a erreur par défaut.

T A B L E A U I

$$c = 10^{-3} ; i \approx 10^{-5}$$

pK _I	Δ pK				
	1	2	3	4	5
2	+ 50,1 %	+ 91 %	+ 99,1 %	+ 100 %	
3	- 39,9 %	+ 1 %	+ 9,1 %	+ 10 %	+ 10,09 %
4	- 48,9 %	- 8 %	+ 0,1 %	+ 1 %	+ 1,09 %
5	- 49,8 %	- 8,9 %	- 0,8 %	+ 0,1 %	+ 0,19 %

Pour que l'erreur maximum soit de l'ordre de $\pm 1 \%$, il est nécessaire que $pK_I \geq 4$ et $\Delta pK \geq 3$

T A B L E A U II

$$c = 10^{-2} ; i \approx 10^{-5}$$

pK _I	Δ pK				
	1	2	3	4	5
1	+ 50,01 %	+ 90,9 %	+ 99,01 %	+ 99,01 %	+ 100 %
2	- 39,99 %	+ 0,91 %	+ 9,01 %	+ 9,91 %	+ 10 %
3	- 48,99 %	- 8,09 %	+ 0,01 %	+ 0,91 %	+ 1 %
4	- 49,89 %	- 8,99 %	- 0,89 %	+ 0,01 %	+ 0,1 %

Pour que l'erreur maximum soit de l'ordre de $\pm 1 \%$, il est nécessaire que $pK_I \geq 3$ et $\Delta pK \geq 3$

T A B L E A U III

$$c = 10^{-3} ; i \approx 10^{-4}$$

pK _I	Δ pK				
	2	3	4	5	6
1	+ 50,1 %	+ 91 %	+ 99,1 %	+ 100 %	
2	- 39,9 %	+ 1 %	+ 9,1 %	+ 10 %	+ 10,09 %
3	- 48,9 %	- 8 %	+ 0,1 %	+ 1 %	+ 1,09 %
4	- 49,8 %	- 8,9 %	- 0,8 %	+ 0,1 %	+ 0,19 %

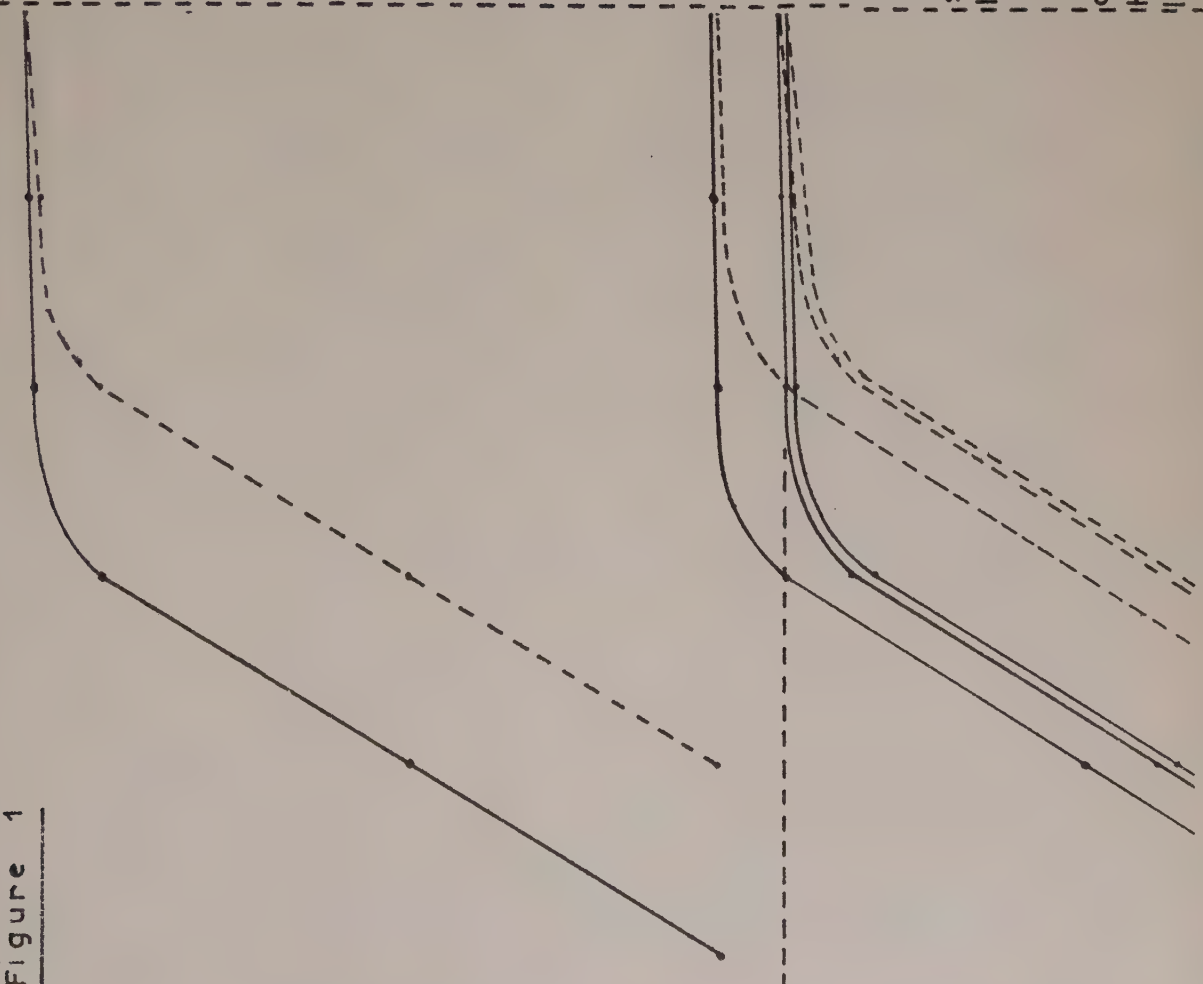
Pour que l'erreur maximum soit de l'ordre de $\pm 1 \%$, il est nécessaire que $pK_I \geq 3$ et $\Delta pK \geq 4$

Figure 1

ERRER
PAR EXCES

ERRER
PAR DEFAUT

0 1 2 3 4 ΔPK



Courbes I (traite pleins)	Courbes II (traite pleins)	Courbes III (pointillés)
$PK_I=2$	$PK_I=1$	$PK_I=1$
$PK_I=3$	$PK_I=2$	$PK_I=2$
$PK_I=4$	$PK_I=3$	$PK_I=3$
$PK_I=5$	$PK_I=4$	$PK_I=4$

Les courbes I et II, à peu près superposables, ont été réunies sur le graphique.

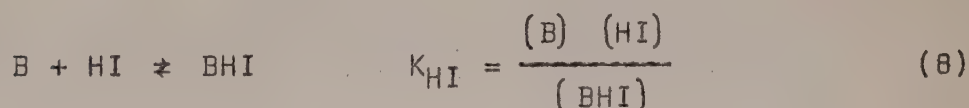
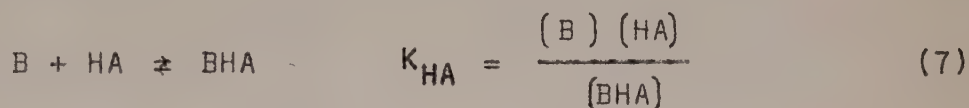
Les courbes III se déduisent des courbes I par une translation horizontale de une unité PK vers la droite.

S'il est placé trop près du réactif titrant sur l'échelle, il peut être nécessaire d'ajouter un excès de réactif pour obtenir le virage ; il y a erreur par excès.

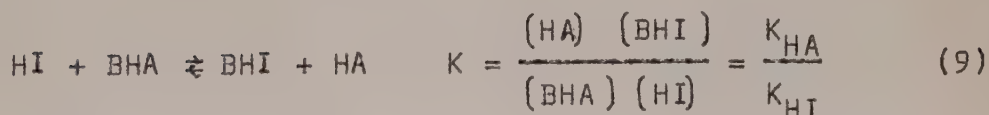
L'erreur totale est la résultante de ces deux erreurs. Nous la définirons encore par l'expression (1) :

$$E = \frac{100 (x - c)}{c}$$

Si nous envisageons le dosage d'une base B par un acide HA en présence d'un indicateur acide HI, les réactions sont les suivantes :



$$K_{HI} > K_{HA} \quad \text{ou} \quad pK_{HA} > pK_{HI}$$



$$pK = pK_{HA} - pK_{HI}$$

Désignons par $(HI)_V$ et $(BHI)_V$ les concentrations molaires en HI et BHI au moment du virage ; les autres symboles ont même signification que dans le cas des indicateurs de type I.

$$x = (BHA)_V + (HA)_V \quad (10)$$

$$\text{Or : } (HA)_v = \frac{K_{HA}}{K_{HI}} \frac{(BHA)_v (HI)_v}{(BHI)_v} \quad \text{d'après (9)}$$

Donc :

$$x = (BHA)_v \left(1 + \frac{K_{HA}}{K_{HI}} \frac{(HI)_v}{(BHI)_v} \right)$$

A tout moment la concentration en base totale est :

$$c = (BHA) + (BHI) + (B)$$

Par suite :

$$(BHA)_v = c - (BHI)_v - (B)_v$$

Et comme :

$$(B)_v = K_{HI} \frac{(BHI)_v}{(HI)_v} \quad \text{d'après (8)}$$

$$(BHA)_v = c - (BHI)_v - K_{HI} \frac{(BHI)_v}{(HI)_v}$$

$$x = (c - (BHI)_v - K_{HI} \frac{(BHI)_v}{(HI)_v}) \left(1 + \frac{K_{HA}}{K_{HI}} \frac{(HI)_v}{(BHI)_v} \right)$$

soit, en remplaçant $(BHI)_v$ et $(HI)_v$ par leur valeur déduite de la loi de BEER :

$$x = \left(c - \frac{D_1}{\epsilon} - K_{HI} \frac{\frac{D_1}{\epsilon}}{i - \frac{D_1}{\epsilon}} \right) \left(1 + \frac{K_{HA}}{K_{HI}} \frac{i - \frac{D_1}{\epsilon}}{\frac{D_1}{\epsilon}} \right) \quad (11)$$

Le premier facteur du second membre de cette égalité varie donc avec la concentration de la base à doser, avec

celle de l'indicateur, et avec la distance pK_{HI} qui sépare l'indicateur de la base à doser sur l'échelle unique. Il correspond à l'erreur par défaut.

Le second facteur varie avec la concentration en indicateur et la distance $\Delta pK = pK_{HA} - pK_{HI}$ qui sépare l'indicateur de l'acide titrant sur l'échelle unique. Il correspond à l'erreur par excès. Nous avons calculé l'erreur E pour différentes valeurs de pK_{HI} et de ΔpK , en attribuant à D_1 et ϵ les mêmes valeurs que pour les indicateurs de type I.

Les résultats sont réunis sur les tableaux et les courbes IV, V et VI (figure 2) :

IV :	$c = 10^{-3}$,	$i \approx 10^{-5}$
V :	$c = 10^{-2}$,	$i \approx 10^{-5}$
VI :	$c = 10^{-3}$,	$i \approx 10^{-4}$

La variation de E est la même lorsqu'on décuple la concentration d'un indicateur acide HI_1 de type II que lorsqu'on le remplace, à concentration égale, par un indicateur HI_2 placé un échelon plus haut sur l'échelle unique. (Cf tableaux IV et VI). Si l'acide titrant est très fort, le dosage gagne donc en précision lorsqu'on augmente la concentration en indicateur.

La formule (11) et les tableaux IV, V et VI, sont applicables au dosage d'un acide HA par une base B en présence d'un indicateur basique I ; il suffit de remplacer pK_{HI} par pK_I , distance qui sépare indicateur et acide à doser sur l'échelle unique, et de poser $\Delta pK = pK_B - pK_I$, distance qui sépare base titrante et indicateur sur l'échelle unique

T A B L E A U IV
 $c = 10^{-3}$; $i \approx 10^{-5}$

pK_{HI}	ΔpK				
	1	2	3	4	5
3	+ 79,8 %	- 1,11 %	- 9,2 %	- 10,01 %	- 10,09 %
4	+ 97,8 %	+ 8,79 %	- 0,11 %	- 1,001 %	- 1,09 %
5	+ 99,6 %	+ 9,78 %	+ 0,798 %	- 0,1 %	- 0,19 %

Si $pK_{HI} < 3$, HI et B ne se combinent pratiquement pas ; il n'apparaît pas de coloration.

Pour que l'erreur maximum soit de l'ordre de ± 1 %, il est nécessaire que $pK_{HI} \geq 4$ et $\Delta pK \geq 3$

T A B L E A U V
 $c = 10^{-2}$; $i \approx 10^{-5}$

pK_{HI}	ΔpK				
	1	2	3	4	5
2	+ 79,98 %	- 1,011 %	- 9,11 %	- 9,92 %	- 10 %
3	+ 97,98 %	+ 8,89 %	- 0,02 %	- 0,91 %	- 1 %
4	+ 99,78 %	+ 9,88 %	+ 0,89 %	- 0,1 %	- 0,1 %
5	+ 99,96 %	+ 9,98 %	+ 0,97 %	+ 0,08 %	- 0,01 %

Si $pK_{HI} < 2$, HI et B ne se combinent pratiquement pas ; il n'apparaît pas de coloration.

Pour que l'erreur maximum soit de l'ordre de ± 1 %, il est nécessaire que $pK_{HI} \geq 3$ et $\Delta pK \geq 3$

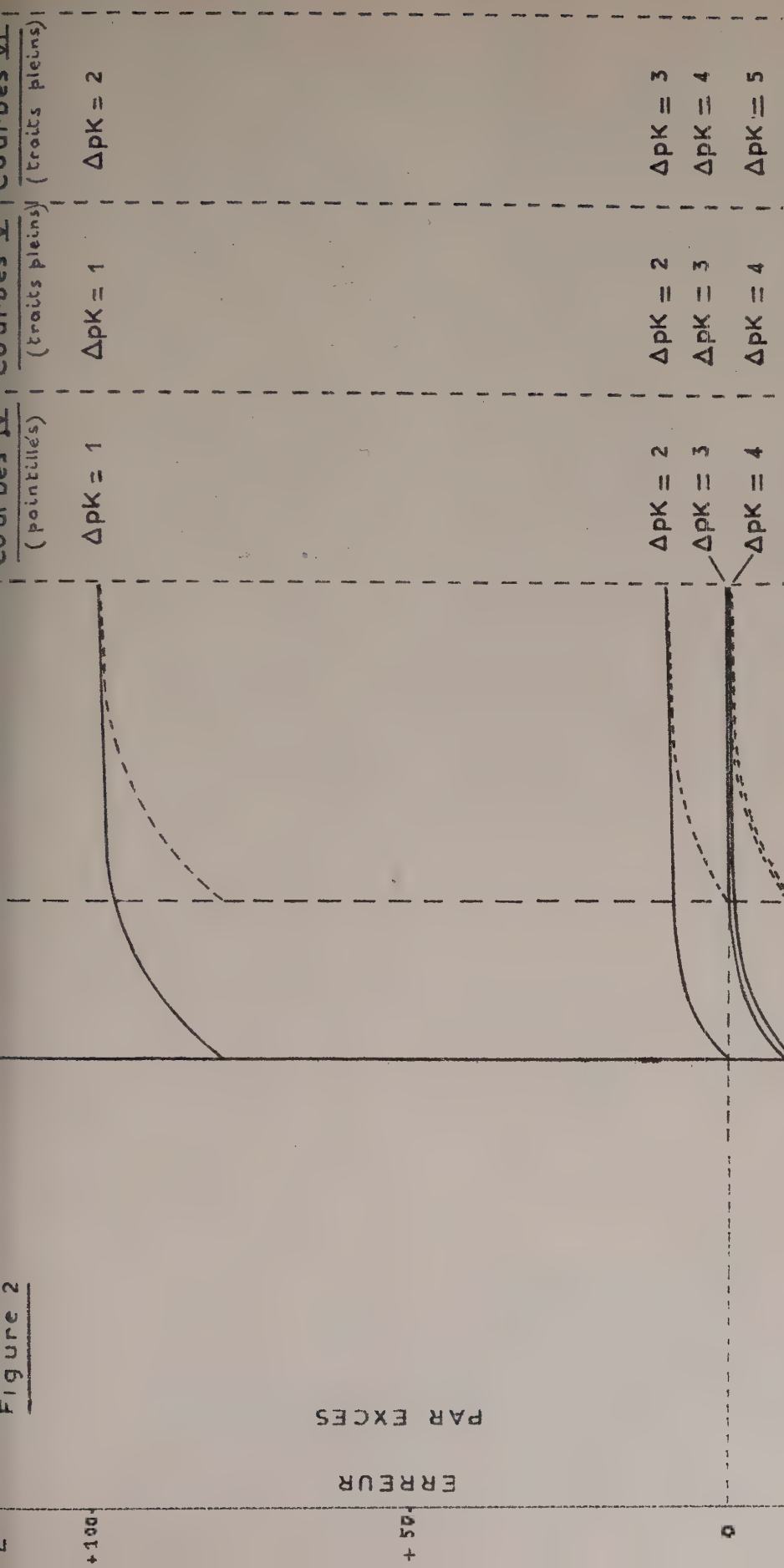
T A B L E A U VI
 $c = 10^{-3}$; $i \approx 10^{-4}$

pK_{HI}	ΔpK				
	2	3	4	5	6
2	+ 79,8 %	- 1,11 %	- 9,2 %	- 10,01 %	- 10,09 %
3	+ 97,8 %	+ 8,79 %	- 0,11 %	- 1,001 %	- 1,09 %
4	+ 99,6 %	+ 9,78 %	+ 0,798 %	- 0,1 %	- 0,19 %

Si $pK_{HI} < 2$, HI et B ne se combinent pratiquement pas ; il n'apparaît pas de coloration.

Pour que l'erreur maximum soit de l'ordre de ± 1 %, il est nécessaire que $pK_{HI} \geq 3$ et $\Delta pK \geq 4$

Figure 2



Les courbes V et VI, à peu près superposables, ont été réunies sur le graphique.

Les courbes IV se déduisent des courbes VI par une translation horizontale de une unité PK vers la droite.

Récapitulation

On peut grouper en un seul tableau (tableau VII) les limites de pK_I ou de pK_{HI} et celles de ΔpK , définies de même manière que pour les tableaux précédents, qu'il faut observer pour que l'erreur soit de + 1 % environ, avec un indicateur de type I ou II, en fonction de la concentration de la solution en substance à doser et en indicateur.

Sur le tableau VII, pK_{ind} désigne soit pK_{HI} , soit pK_I , suivant que l'indicateur est acide ou basique (*).

La figure 3 représente la situation de pK_{ind} et de ΔpK sur l'échelle générale dans les quatre cas possibles.

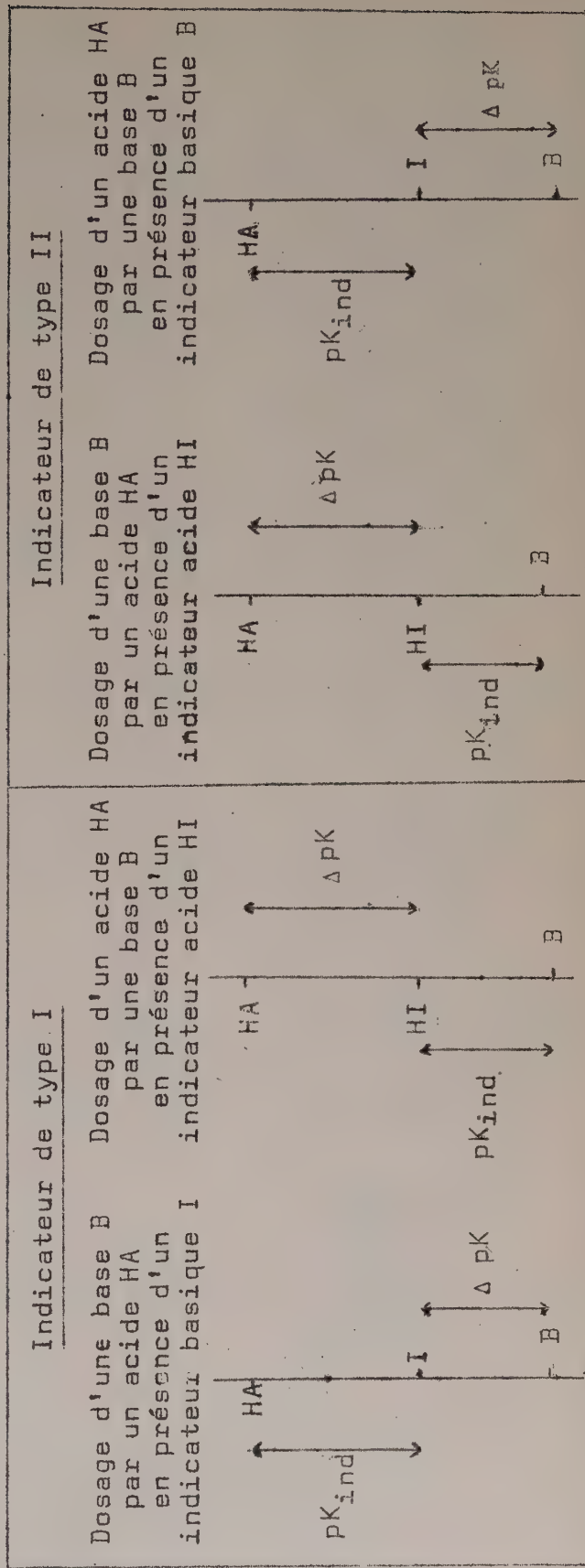
(*) Les résultats exposés concernent un solvant non dissociant idéal ; un tel solvant n'existe pas en pratique, et les espèces en présence peuvent être en partie dissociées :



Avec les solvants de faible constante diélectrique comme le benzène, le chloroforme, etc, qui sont très proches du solvant idéal, on peut s'aider des données du tableau VII pour prévoir, sur le plan pratique, la précision d'un dosage protométrique.

$c = 10^{-2}$	$i = 10^{-5}$	$i = 10^{-4}$	$i = 10^{-3}$
$\Delta pK \geq 3$	$\Delta pK \geq 3$	$\Delta pK \geq 4$	$\Delta pK \geq 5$
$pK_{ind} \geq 3$	$pK_{ind} \geq 3$	$pK_{ind} \geq 2$	$pK_{ind} \geq 1$
$c = 10^{-3}$	$\Delta pK \geq 3$	$\Delta pK \geq 4$	$\Delta pK \geq 5$
	$pK_{ind} \geq 4$	$pK_{ind} \geq 3$	$pK_{ind} \geq 2$
$c = 10^{-4}$	$\Delta pK \geq 3$	$\Delta pK \geq 4$	$\Delta pK \geq 5$
	$pK_{ind} \geq 5$	$pK_{ind} \geq 4$	$pK_{ind} \geq 3$

Figure 3



b) Influence de l'indicateur sur la spécificité du dosage

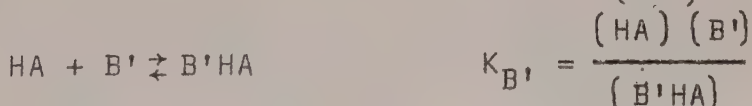
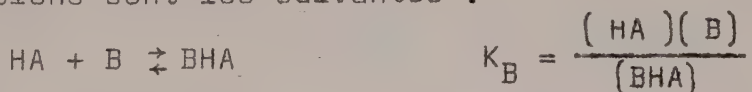
Pour étudier cette spécificité, nous évaluerons l'erreur apportée par toute substance susceptible d'interférer dans le dosage par son acidité ou sa basicité ; nous rechercherons tout d'abord, en fonction de la nature et de la concentration de l'impureté, à quelle valeur minima il est possible d'abaisser cette erreur par un choix judicieux de l'indicateur puis, afin de guider ce choix, nous calculerons l'erreur apportée par une impureté donnée, en fonction de la nature de l'indicateur et de sa concentration.

1 - L'impureté est de même nature acide ou basique que la substance à doser

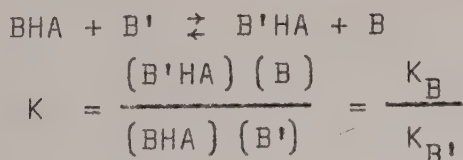
α - Influence de la concentration en impureté et de la distance qui la sépare de la substance à doser sur l'échelle unique

Calculons la quantité x d'acide fort HA nécessaire pour obtenir la neutralisation à 99 % d'une base B, de concentration c, en présence d'une impureté basique B', de concentration c'.

Les réactions sont les suivantes :



Il peut y avoir échange :



(12)

HA étant un acide fort, on peut négliger (HA) et écrire :

$$x = (\text{BHA}) + (\text{B'HA})$$

Par hypothèse :

$$(\text{BHA}) = \frac{99 \text{ c}}{100}$$

D'après la relation (12)

$$(\text{B'HA}) = \frac{K_B}{K_{B'}} \frac{(\text{BHA}) \cdot (\text{B'})}{(\text{B})} = \frac{K_B}{K_{B'}} \frac{\frac{99 \text{ c}}{100} (\text{c}' - (\text{B'HA}))}{\frac{\text{c}}{100}}$$

$$(\text{B'HA}) = 99 \frac{K_B}{K_{B'}} (\text{c}' - (\text{B'HA}))$$

D'où

$$(\text{B'HA}) = \frac{99 \text{ c}'}{\frac{K_{B'}}{K_B} + 99}$$

Pour que l'erreur par excès attachée à l'impureté soit inférieure à 1 %, il faut que :

$$x < \frac{101 \text{ c}}{100}$$

$$\frac{99 \text{ c}}{100} + \frac{99 \text{ c}'}{\frac{K_{B'}}{K_B} + 99} < \frac{101 \text{ c}}{100}$$

$$\frac{99 \text{ c}'}{\frac{K_{B'}}{K_B} + 99} < \frac{2 \text{ c}}{100}$$

Cette relation permet de calculer, en fonction de la distance $pK_B - pK_B$, entre la substance à doser et l'impureté sur l'échelle unique, la limite de concentration en impureté au-dessous de laquelle le dosage est possible avec une précision supérieure à 99 %. Le tableau VIII représente quelques unes de ces valeurs limites.

TABLEAU VIII

c	pK - pK'					
	0	1	2	3	4	5
10^{-4}	2.10^{-6}	$2,2.10^{-6}$	4.10^{-6}	$2,2.10^{-5}$	2.10^{-4}	2.10^{-3}
10^{-3}	2.10^{-5}	$2,2.10^{-5}$	4.10^{-5}	$2,2.10^{-4}$	2.10^{-3}	2.10^{-2}
10^{-2}	2.10^{-4}	$2,2.10^{-4}$	4.10^{-4}	$2,2.10^{-3}$	2.10^{-2}	2.10^{-1}

En conclusion, si l'impureté est située trop près de la substance à doser sur l'échelle unique, ou si sa concentration est trop élevée, il est impossible d'obtenir la précision recherchée (99 % par exemple), quelles que soient la nature et la concentration de l'indicateur utilisé.

β - Influence de l'indicateur

En plus de la compétition entre base à titrer et impureté vis-à-vis du réactif titrant, l'erreur par excès peut être attachée au retard amené par l'impureté au virage de l'indicateur.

Soit par exemple le dosage par un acide fort d'une base B, en solution $10^{-3}M$, en présence d'une impureté B', elle aussi en concentration $10^{-3}M$, et placée à 4 unités pK au-dessus de B sur l'échelle unique.

La concentration en impureté étant inférieure à $2 \cdot 10^{-3}M$, le dosage est en principe possible avec une erreur inférieure à 1 % (cf. tableau VIII).

Sans tenir compte de la compétition entre base à doser et impureté vis-à-vis du réactif titrant, calculons l'erreur apportée par l'impureté en fonction de la position de l'indicateur sur l'échelle unique.

D'après la relation 1, l'erreur sur le dosage de l'impureté seule serait :

$$E' = \frac{100 (x' - c')}{c'}$$

L'erreur par excès apportée par l'impureté au dosage de la base est alors :

$$E'' = \frac{100 x'}{c} = 100 \frac{\frac{E' c'}{100} + c'}{c}$$

Si, comme dans l'exemple choisi, $c' = c$, cette expression devient :

$$E'' = E' + 100$$

On peut calculer E' à l'aide des relations (6) ou (11), suivant que l'indicateur est de type I ou de type II.

Le tableau IX indique la valeur de l'erreur E'' , suivant le type de l'indicateur, sa position sur l'échelle unique et sa concentration i , la distance minima entre indicateur et substance à doser étant donnée par le tableau VII.

L'examen de ce tableau conduit à trois constatations :

- Quel que soit le type de l'indicateur, l'erreur apportée au dosage par l'impureté B' est d'autant plus grande que l'indicateur est situé plus haut sur l'échelle. La spécificité d'un dosage est donc d'autant plus élevée que l'indicateur est situé plus près de la substance à doser sur l'échelle unique.

- Dans l'exemple étudié, l'erreur sur le dosage de B est égale ou supérieure à 1 %, quelle que soit la concentration de l'indicateur et sa position sur l'échelle unique, si l'indicateur est de type I. Par contre cette erreur peut être nulle lorsque l'indicateur est de type II, si sa concentration est faible et s'il est situé assez bas sur l'échelle unique. Envisageons, par exemple, le cas où $pK_{B'} - pK_{ind} = 2$, et $i = 10^{-5}$; dans ces mêmes conditions, l'erreur est de 90 % quand l'indicateur est de type I ; elle est nulle si l'indicateur est de type II.

Il y a donc intérêt à choisir ce dernier type d'indicateur lorsque la pureté de la substance à doser peut être mise en doute et que l'on soupçonne la présence d'impuretés de même nature, acide ou basique, que cette substance.

TABLEAU IX

Valeur de l'erreur E'' apportée par B' au dosage de B , en fonction de la concentration i en indicateur et de sa position sur l'échelle unique.

Indicateur du Type I

	$i = 10^{-5}$	$i = 10^{-4}$	$i = 10^{-3}$
	90	50	10
	50	10	1
$B' (c' = 10^{-3})$	10	1	TTTTTTTT
	1	TTTTTTTT	
	TTTTTTTT		
$B (c = 10^{-3})$			

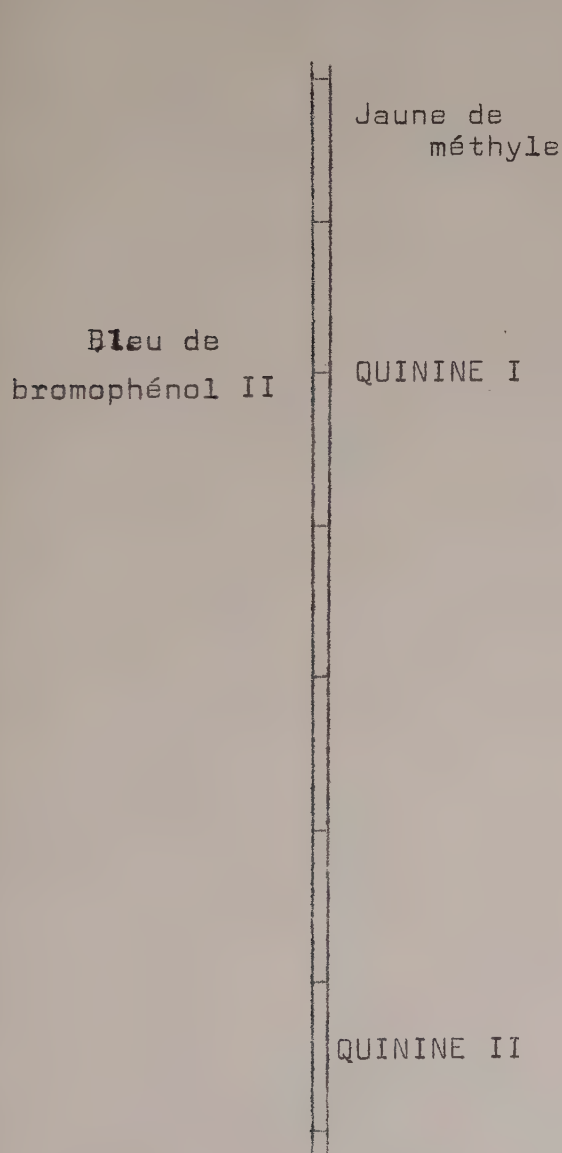
Indicateur du Type II

	$i = 10^{-5}$	$i = 10^{-4}$	$i = 10^{-3}$
	90	99	
	0	90	99
	0	0	90
$B' (c' = 10^{-3})$	0	0	0
	TTTTTTTT	0	0
		TTTTTTTT	0
			TTTTTTTT
$B (c = 10^{-3})$			

- Si l'indicateur est de type I, l'erreur liée à la présence de B' diminue quand la concentration en indicateur augmente ; c'est l'inverse quand l'indicateur est de type II.

Un cas particulier d'"impureté" basique est représenté par la fonction basique faible de certains alcaloïdes dibasiques.

Considérons, par exemple, le cas de la quinine (fig.4):



en solution $10^{-3}M$, cet alcaloïde se comporte comme une base simple si l'indicateur est la fonction acide faible du bleu de bromophénol, indicateur de type II ($i = 10^{-3}$, acide titrant : fonction acide fort du bleu de bromophénol) ; par contre son équivalent est voisin de 2 lorsque le dosage est effectué en présence de jaune de méthyle, indicateur de type I ($i = 10^{-5}$; acide titrant : acide p-toluène sulfonique).

En conclusion, il est préférable, lorsque la solution peut contenir des impuretés de même nature, acide ou basique, que la solution à doser, d'employer un indicateur de type II, situé sur l'échelle assez loin de cette substance pour que le dosage soit précis, mais assez près pour réduire au minimum l'erreur apportée par les impuretés.

Figure 4

Cette éventualité se rencontre quand on veut doser les alcaloïdes d'une plante après les avoir extraits par un acide puis précipités par une base ; d'autres bases non alcaloïdiques, peu solubles dans l'eau, peuvent précipiter avec les alcaloïdes.

2 - L'impureté et la substance à doser ne sont pas de même nature acide ou basique

L'impureté peut alors neutraliser en partie la substance à doser, et apporter au dosage une erreur par défaut ; ceci est rare au cours du dosage des alcaloïdes d'une drogue végétale, du fait de leur mode d'extraction.

Pour obtenir une bonne précision malgré la présence de l'impureté, il faut, d'une part employer un réactif titrant situé le plus loin possible de la substance à doser sur l'échelle unique, afin de réduire au minimum la compétition entre l'impureté et le réactif titrant vis-à-vis de la substance à doser, d'autre part choisir convenablement l'indicateur ;

HI 1 I

HA' -

2 I'

+ B

considérons par exemple le cas, représenté sur la figure 5, du dosage d'une base B en présence d'une impureté acide HA' :

- si l'indicateur est de type I et s'il se trouve en position 1 sur l'échelle unique(I), l'acide HA' est trop faible pour s'unir à I ; il n'apporte pas d'erreur au dosage ;

- si l'indicateur est de type II et s'il se trouve en position 1 sur l'échelle unique(HI) il y a compétition entre HA' et HI vis-à-vis de la base à titrer; le dosage est entaché d'une er-

Figure 5

- si l'indicateur est de type I et s'il se trouve en position 2 sur l'échelle unique (I'), il s'unit en partie à HA' ; il y a erreur par défaut.

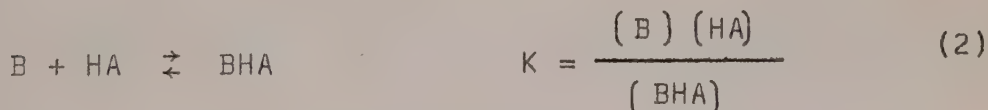
Il est donc préférable d'employer un indicateur de type I, situé sur l'échelle assez loin du réactif titrant pour que le dosage soit précis (cf. tableau VII), mais assez près pour réduire au minimum l'erreur apportée par l'impureté.

§ III - Choix du solvant

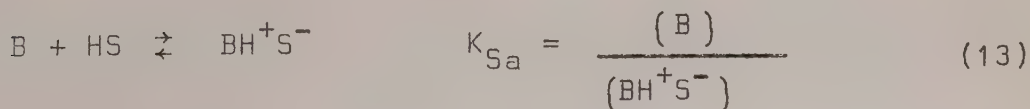
Un solvant non dissociant peut être chimiquement inerte ; dans ce cas il n'influe pas sur le dosage : les réactions y sont celles décrites précédemment.

Par contre ce solvant peut être acide ou basique, on dit alors qu'il est actif. Un solvant actif peut modifier l'acidité ou la basicité apparentes des substances qui y sont dissoutes.

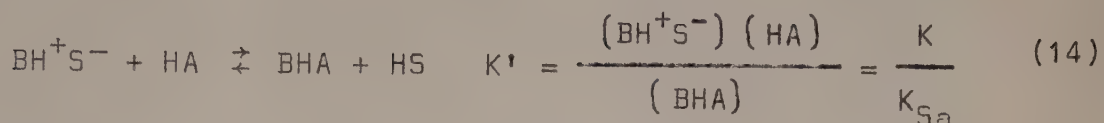
Dans un solvant inerte, la réaction entre un acide HA et une base B, s'écrit :



Dans un solvant acide HS, la base peut se combiner au solvant suivant la réaction :



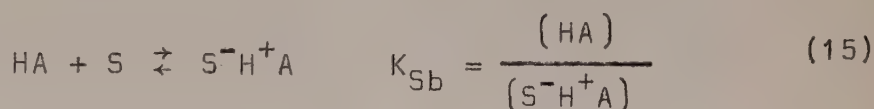
appelée réaction de solvolysé : la réaction (2) devient alors :



La base B paraît plus faible que dans un solvant inerte :

$$\text{pK}' = \text{pK} - \text{pK}_{\text{Sa}}$$

Dans un solvant basique S, l'acide peut se combiner au solvant suivant la réaction de solvolysé :



et la réaction (2) devient :



La base paraît plus faible que dans un solvant inerte :

$$\text{pK}'' = \text{pK} - \text{pK}_{\text{Sb}}$$

Nous nous proposons d'étudier l'influence d'un solvant actif sur la précision et sur la spécificité du dosage acido-alcalimétrique en présence d'un indicateur coloré.

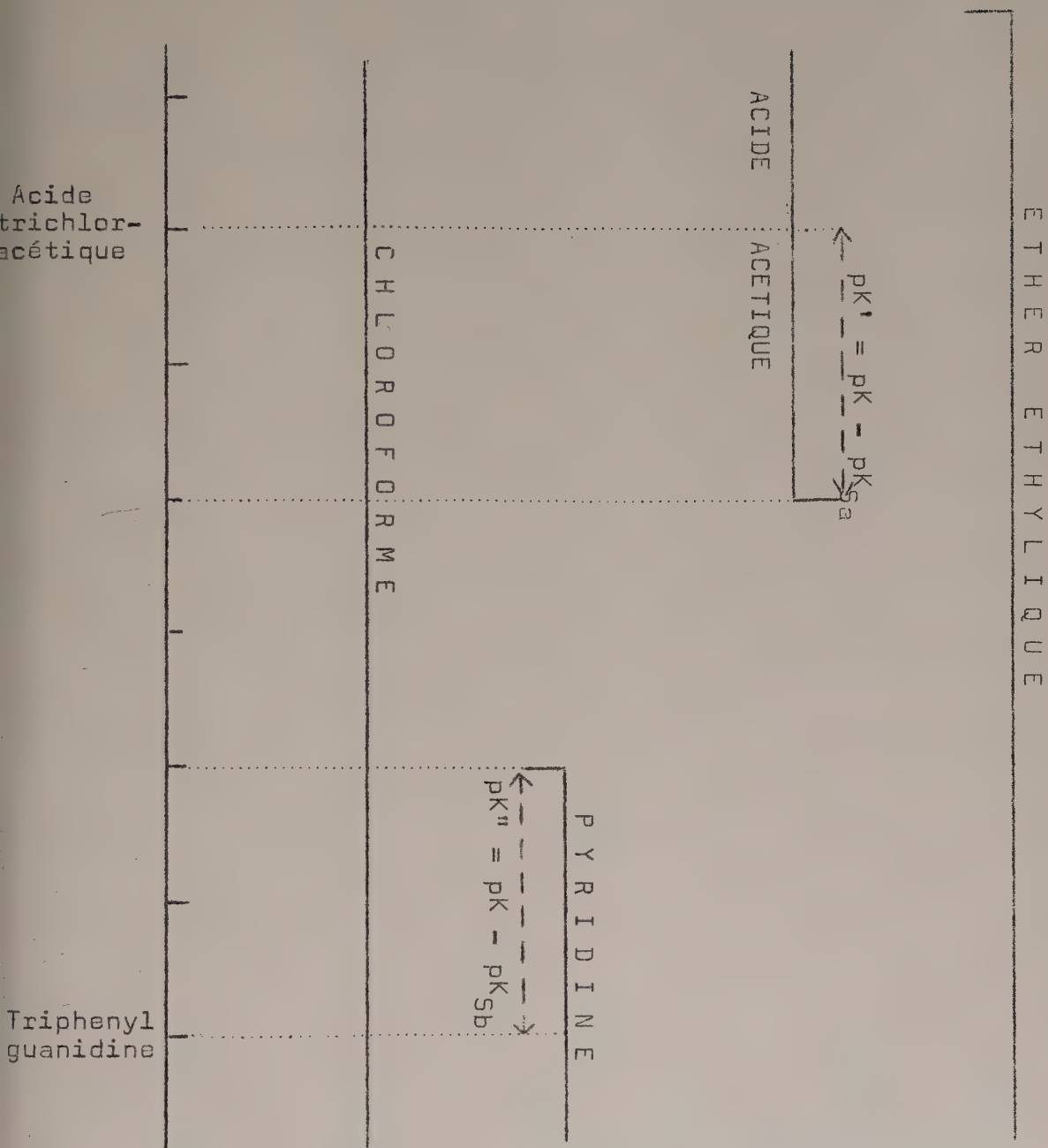


Figure 7

a) Influence du solvant sur la précision du dosage

Sur la figure 7, empruntée à CHARLOT et TREMILLON (4), nous avons représenté des exemples de limitation de l'échelle unique par des solvants acides ou basiques ; on calcule aisément à l'aide de la formule (2) que la neutralisation de la triphénylguanidine par l'acide trichloracétique en solution $10^{-2}M$ s'effectue avec un rendement de 99 % dans le chloroforme, solvant inerte ($pK \approx 6$) ; dans l'acide acétique ($pK' = pK - pK_{Sa} \approx 2$), ou dans la pyridine ($pK'' = pK - pK_{Sb} \approx 2$) ce rendement tombe à 40 % environ. L'éther éthylique, solvant légèrement basique, mais dont la limitation est située sur l'échelle au-dessus de l'acide trichloracétique, se comporte comme un solvant inerte vis-à-vis de cet acide.

Dans un solvant actif, le tableau VII est encore valable pour le choix de l'indicateur, à condition de remplacer le cas échéant ΔpK et pK_{ind} par leurs valeurs modifiées.

Le dosage est donc d'autant plus précis que le solvant choisi est plus inerte par rapport au réactif titrant et à la substance à doser.

b) Influence du solvant sur la spécificité du dosage

La spécificité est encore conditionnée par la position des impuretés sur l'échelle unique par rapport à la substance à doser et à l'indicateur.

Considérons par exemple le cas, représenté sur la figure 8, du dosage d'une base B par un acide HA, en présence d'une impureté B' ; dans un solvant inerte S, l'indicateur HI permettrait une précision suffisante, et l'impureté B', située sur l'échelle unique au-dessus de HI et à une distance suffisante de B, n'influencerait pas sur le dosage ; dans un solvant acide S' par contre, la base B est "remontée" au niveau de la limitation, sous forme de BHS. Il peut alors y avoir compétition entre B' et BHS vis-à-vis du réactif titrant ;

d'autre part il est nécessaire pour obtenir une bonne précision d'employer un indicateur HI', situé plus haut que HI sur l'échelle unique ; l'impureté B' apporte alors une erreur par excès, en retardant le virage de l'indicateur.

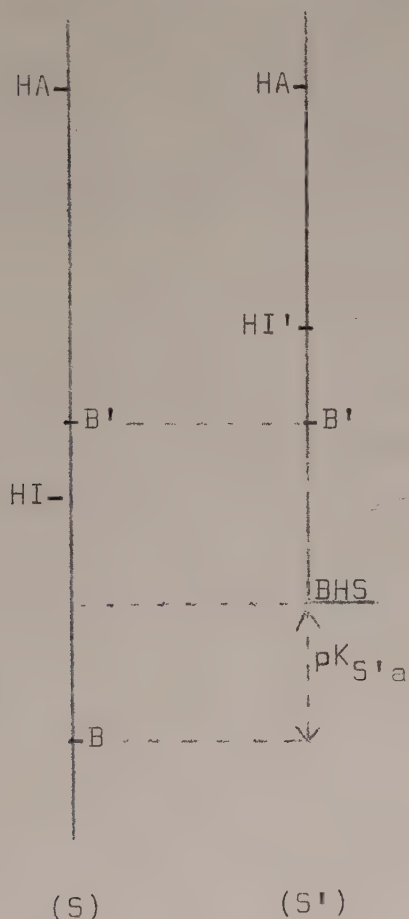


Figure 8

De la même manière, on montrerait que la spécificité du dosage à l'égard des impuretés acides est d'autant plus faible que le solvant est plus basique.

On peut donc augmenter d'autant plus la spécificité d'un dosage que le solvant utilisé est moins actif.

En conclusion, les meilleures conditions pour effectuer un micro-dosage protométrique en milieu peu dissociant peuvent être résumées ainsi :

- le solvant doit être le plus inerte possible ;
- le réactif titrant doit être le plus éloigné possible de la substance à doser sur l'échelle unique ;

- l'indicateur coloré doit être choisi de manière à obéir aux conditions du tableau VII ;

- on doit employer un indicateur de type II pour réduire au minimum l'influence des impuretés, si elles sont de même nature acide ou basique que la substance à doser ; en revanche, il est préférable d'utiliser un indicateur de type I dans le cas contraire.

C - SOLVANTS DISSOCIANTS

Ces solvants dissocient les paires ou les agrégats d'ions en ions solvatés.

On peut considérer comme solvants dissociants ceux dont la constante diélectrique est supérieure à 30 : alcools légers : méthanol, éthanol; certaines amides comme la formamide, etc... On admet que dans ces solvants les sels sont complètement ionisés : la réaction entre un acide HA et une base B peut alors s'écrire :

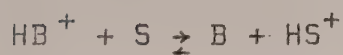


Dans un solvant dissociant, un acide peut être une molécule : HA, ou un ion positif : HB^+ ; une base peut être une molécule : B ou un ion négatif : A^- .

Dans tous les cas, la force d'un acide ou d'une base est caractérisée par sa constante de dissociation :



$$K_{A1} = \frac{(A^-) (HS^+)}{(HA)} \quad (17)$$



$$K_{A2} = \frac{(B) (HS^+)}{(HB^+)} \quad (18)$$



$$K_{B1} = \frac{(HA) (S^-)}{(A^-)} \quad (19)$$



$$K_{B2} = \frac{(HB^+) (S^-)}{(B)} \quad (20)$$

On démontre aisément que pour un couple acide-base tel que HA/A^- ou HB^+/B les valeurs de K_A et K_B sont liées par la relation :

$$K_A \cdot K_B = K_i \quad (21)$$

où K_i est la constante d'ionisation du solvant :

$$K_i = (S^-) (H_2S^+) \quad (22)$$

On peut donc écrire :

$$pK_A = pK_i - pK_B$$

La constante d'équilibre de la réaction (16) est :

$$K = \frac{(A^-) (HB^+)}{(HA) (B)} = \frac{K_{A1}}{K_{A2}} = \frac{K_{B2}}{K_{B1}}$$

$$pK = pK_{A1} - pK_{A2} = pK_{B2} - pK_{B1}$$

L'équilibre (16) est donc d'autant plus déplacé vers la droite, ou en d'autres termes la réaction est d'autant plus quantitative que K_{A1}/K_{A2} (ou K_{B2}/K_{B1}) est plus grand,

c'est-à-dire que $pK_{A2} - pK_{A1}$ (ou $pK_{B1} - pK_{B2}$) est plus grand. On peut donc classer tous les couples acide-base sur une même échelle par ordre de pK_A ou de pK_B croissants. On a adopté une échelle où les pK_A vont en augmentant de haut en bas. Tout acide peut agir sur toute base située en-dessous de lui sur cette échelle, et la quantitativité de la réaction peut être prévue en fonction de la distance ΔpK_A qui les sépare. Cette échelle peut donc être utile pour choisir le réactif titrant et l'indicateur en vue d'un dosage.

§ I - Choix du réactif titrant

Supposons que la réaction (16) corresponde au dosage d'une base par un acide ou réciproquement, et que nous désirions obtenir une neutralisation de 99 % quand acide et base sont en concentration équimoléculaire c .

$$\frac{(A^-)(HB^+)}{(HA)(B)} = \frac{K_{A1}}{K_{A2}}$$

Par hypothèse :

$$(HA) + (A^-) = (B) + (HB^+) = c$$

Ecrivons que la solution reste électriquement neutre :

$$(A^-) + (S^-) = (HB^+) + (HS^+)$$

Supposons que (S^-) et (HS^+) soient égaux (condition a) ou négligeables devant (A^-) et (HB^+) (condition b). On peut

alors écrire :

$$(\text{A}^-) = (\text{HB}^+)$$

et par suite :

$$(\text{HA}) = (\text{B})$$

$$\frac{K_{A1}}{K_{A2}} \approx \frac{100 \times 100}{1 \times 1} = 10^4$$

$$\Delta \text{pK}_A = \text{pK}_{A2} - \text{pK}_{A1} = 4$$

On calcule de même qu'une précision à 99,9 % exige que $\Delta \text{pK}_A = 6$ (3, p. 260) .

Lorsque les conditions a et b sont réalisées, la précision est donc indépendante de la concentration. Nous allons étudier successivement ces deux conditions :

Condition a :

Pour que $(\text{S}^-) = (\text{HS}^+)$, il est nécessaire que le pK_A de l'acide soit égal au pK_B de la base, soit :

$$\text{pK}_{A1} + \text{pK}_{A2} \approx \text{pK}_i$$

Tel est le cas dans l'eau pour l'acide acétique ($\text{pK}_{A1} = 4,75$) et l'ammoniac ($\text{pK}_{A2} = 9,25$) :

$$\text{pK}_{A1} + \text{pK}_{A2} = 14 = \text{pK}_i$$

$$\text{pK}_A = 9,25 - 4,75 = 4,5$$

La différence de pK étant supérieure à 4 le rendement de la neutralisation dépasse 99 % lorsque l'acide et la base sont en concentration équimoléculaire, quelle que soit cette concentration.

Lorsque la condition a n'est pas réalisée on a :

$$pK_{A1} + pK_{A2} > pK_i, \quad (S^-) > (HS^+)$$

ou :

$$pK_{A1} + pK_{A2} < pK_i, \quad (S^-) < (HS^+)$$

(S^-) est d'autant plus différent de (HS^+) que la différence en valeur absolue $|pK_{A1} + pK_{A2} - pK_i|$ est plus grande.

Condition b :

Lorsque $pK_{A1} + pK_{A2} \neq pK_i$, (S^-) et (HS^+) peuvent être négligés devant (A^-) et (H^+B) si la concentration c en acide et en base est élevée et ceci d'autant plus que c est plus grand et que $|pK_{A1} + pK_{A2} - pK_i|$ est plus petit.

Le ΔpK_A nécessaire entre le réactif titrant et la substance à doser pour que la neutralisation s'effectue avec un rendement de 99 % est d'autant plus grand que

$|pK_{A1} + pK_{A2} - pK_i|$ est plus grand et que c est plus petit.

En conclusion, l'erreur sur la neutralisation de la substance à doser par le réactif titrant est plus difficile à prévoir que dans le cas des solvants peu dissociants ; elle est d'autant plus faible que ΔpK_A est plus grand.

§ II - Choix de l'indicateur coloré

L'erreur d'indicateur est habituellement négligeable en volumétrie classique où la concentration en indicateur est très petite devant celle de la substance à doser et du réactif titrant. Il n'en est pas de même en microvolumétrie où ces concentrations sont de même ordre.

a) Influence de l'indicateur sur la précision du dosage

Au cours du dosage d'une base par un acide, l'indicateur est toujours une base :

- I lorsque l'indicateur est de type I (HI^+/I) ;
- I^- lorsque l'indicateur est de type II (HI/I^-).

De même l'indicateur est toujours un acide au cours du dosage d'un acide par une base.

Comme dans le cas des solvants peu dissociants, l'erreur d'indicateur est liée au coefficient d'extinction molaire de celui-ci et à sa position sur l'échelle par rapport au réactif titrant (R.T.) et à la substance à doser (S.D.) :

- c'est une erreur par défaut lorsque $|\text{pK}_A \text{ S.D.} - \text{pK}_A \text{ I}|$ est faible, c'est-à-dire lorsque l'indicateur est trop proche de la substance à doser sur l'échelle des pK_A ; le réactif titrant s'unit alors à l'indicateur avant la neutralisation complète de la substance à doser ;

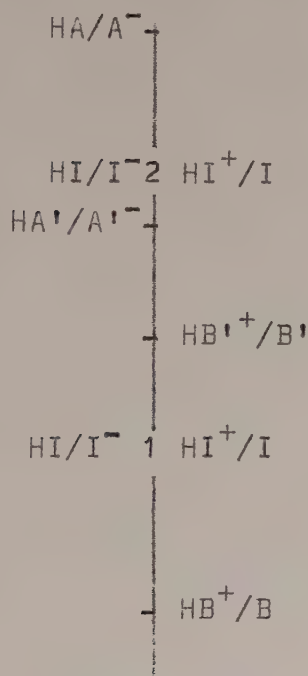
- c'est une erreur par excès lorsque $|\text{pK}_A \text{ R.T.} - \text{pK}_A \text{ I}|$ est faible, c'est-à-dire lorsque l'indicateur est trop proche du réactif titrant sur l'échelle des pK_A ; il faut alors employer un excès de réactif titrant pour percevoir le virage.

La concentration en indicateur étant très faible, la condition b n'est pas toujours réalisée, et le calcul de l'erreur est plus difficile que dans le cas des solvants peu dissociants

b) Influence de l'indicateur sur la spécificité du dosage

Comme dans le cas des solvants peu dissociants, la spécificité du dosage est conditionnée en grande partie par le choix de l'indicateur. Considérons par exemple le cas, représenté sur la figure 9, du dosage d'une base B par un acide HA, en présence d'une impureté basique B' (située assez loin de B) et d'une impureté acide HA' (située assez loin de HA) :

- si l'indicateur est de type I (HI^+/I), et s'il se trouve en position 1 sur l'échelle des pK_A , les impuretés



HA' et B' influent toutes les deux sur le dosage ; en effet HA' transforme une partie de I en HI^+ , apportant une erreur par défaut ; B' entre en compétition avec I vis-à-vis du réactif titrant, amenant une erreur par excès ;

- si l'indicateur est de type I et s'il se trouve en position 2 sur l'échelle des pK_A , l'impureté B' influe seule sur le dosage ; en effet I n'est plus assez basique pour se combiner à HA' ;

- si l'indicateur est de type II (HI/I^-) et s'il se trouve en position 2 sur l'échelle des pK_A , les impuretés HA' et B' influent toutes les deux sur le dosage ; en effet HA'

entre en compétition avec HI vis-à-vis de B, apportant une erreur par défaut ; B' transforme une partie de HI en I^- , causant une erreur par excès.

- si l'indicateur est de type II et s'il se trouve en position 1 sur l'échelle des pK_A , l'impureté HA' influe seule sur le dosage ; en effet HI n'est plus assez acide pour se

Figure 9

combiner à B'.

En conclusion, si les impuretés sont de même nature acide ou basique que la substance à doser, il est préférable d'employer un indicateur de type II, situé sur l'échelle des pK_A assez loin de cette substance pour que le dosage soit précis, assez près pour que l'influence des impuretés soit réduite au minimum.

Si les impuretés ne sont pas de même nature que la substance à doser, il est préférable d'employer un indicateur de type I, situé sur l'échelle des pK_A assez loin du réactif titrant pour que le dosage soit précis, assez près pour que l'influence des impuretés soit réduite au minimum.

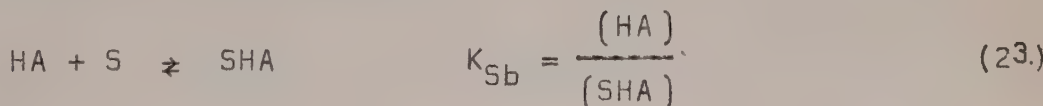
L'étude de la neutralisation successive de deux acides ou de deux bases en mélange a été effectuée par divers auteurs (3, p. 284 ; 25, p. 472)

§ III - Choix du solvant

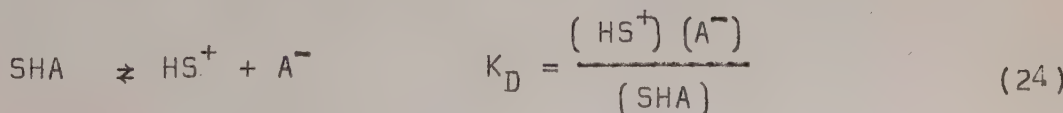
a) Influence du solvant sur la précision du dosage

Dans les solvants dissociants, la force des acides et des bases est influencée par la basicité et l'acidité du solvant comme dans les solvants non dissociants, et aussi par le pouvoir dissociant de ce solvant, caractérisé par sa constante diélectrique.

A la réaction de solvolysé :



succède une dissociation de la paire d'ions formée, donnant naissance à des ions solvatés :



En englobant la réaction de solvolysé et celle de dissociation on écrit :



$$K_A = \frac{(HS^+) (A^-)}{(HA) + (SHA)} = \frac{K_D}{1 + K_{Sb}} \quad (25)$$

On arrive à un résultat identique en étudiant l'influence d'un solvant dissociant sur la force d'une base :

$$K_B = \frac{K_D}{1 + K_{Sa}} ; \quad K_A = \frac{K_i (1 + K_{Sa})}{K_D} \quad (26)$$

La force d'un acide ou d'une base dépend donc de sa constante de solvolysé et de sa constante de dissociation variables d'un solvant à l'autre.

La valeur de la constante de solvolysé K_{Sa} ou K_{Sb} est liée à l'acidité ou à la basicité du solvant, comme dans le cas des solvants non dissociants et il peut y avoir là encore réduction par le solvant de la force d'un acide ou d'une base.

Ainsi un acide fort HA dissous dans un solvant basique S réagit sur ce solvant suivant la réaction :



Le véritable acide est alors HS^+ , plus faible que HA.

De même une base forte B, dissoute dans un solvant acide HS, réagit sur ce solvant suivant la réaction :



La véritable base est donc S^- , plus faible que B.

Si les limitations de l'échelle des pK_A par l'acidité et la basicité du solvant sont situées, la première au-dessus de B, la seconde au-dessous de A, le ΔpK_A entre A et B est égal à la distance entre ces limitations, c'est-à-dire au pK_i du solvant. Il est donc préférable en règle générale d'effectuer les dosages dans les solvants de pK_i élevés : eau, alcools, formamide, diméthylformamide.

La valeur de la constante de dissociation K_D est liée à la constante diélectrique ϵ du solvant dans le cas où l'ionisation donne naissance à des ions de charges opposées ; c'est le cas des acides de type HA/A^- ou HA^-/A^{2-} et des bases de type HB^+/B ; K_D est alors d'autant plus grand qu' ϵ est plus élevé. La variation de pK_D en fonction d' ϵ est donnée approximativement par la formule de DENISON et RAMSEY

$$pK_D = pK_0 + \frac{0,43 N e^2}{RT} \frac{z_1 z_2}{r_1 + r_2} \frac{1}{\epsilon}$$

où z_1 et z_2 sont les valeurs absolues des charges respectives des deux ions ; r_1 et r_2 leurs rayons, e la charge de l'électron, N le nombre d'Avogadro, R la constante des gaz parfaits, T la température absolue et pK_0 une constante.

La différence entre les valeurs de pK_A d'un même acide de type HA/A^- dans deux solvants de même basicité et de constantes diélectriques ϵ et ϵ' est alors :

$$pK_A - pK'_A = \frac{0,43 N e^2}{RT} \frac{1}{r_1 + r_2} \left(\frac{1}{\epsilon} - \frac{1}{\epsilon'} \right)$$

soit, en supposant que la somme $r_1 + r_2$ garde sensiblement

la même valeur dans les deux solvants :

$$\Delta pK_A = k \Delta \left(\frac{1}{\epsilon} \right) \quad (27)$$

De même, pour une base de type HB^+/B :

$$\Delta pK_B = k \Delta \left(\frac{1}{\epsilon} \right)$$

On démontre que, pour un acide de type HA^-/A^{2-} :

$$\Delta pK_A = 2 k \Delta \left(\frac{1}{\epsilon} \right) \quad (28)$$

Par contre le pK_A d'un acide de type HB^+/B est indépendant de la constante diélectrique du solvant.

Considérons alors le dosage d'une base de type HB^+/B par un acide de type HA/A^- dans un solvant S de constante diélectrique ϵ ; soit pK_{A1} le pK_A du couple HA/A^- et pK_{A2} celui du couple HB^+/B . Le rendement de la neutralisation est fonction de la différence $pK_{A2} - pK_{A1}$. Si le même dosage est effectué dans un solvant S' , de même basicité que S , mais de constante diélectrique ϵ' ($\epsilon' > \epsilon$), la valeur de pK_{A1} est diminuée d'après la relation (27) tandis que celle de pK_{A2} reste inchangée. La différence $pK_{A2} - pK_{A1}$ est donc augmentée et le rendement de la neutralisation est plus élevé.

Si ce dosage est effectué en présence d'un indicateur de type I (HI^+/I), l'erreur attachée à la quantité de HA nécessaire pour rendre perceptible la coloration de I est diminuée. Par contre, l'erreur liée à la compétition entre B et I vis-à-vis de HA reste inchangée. On arrive aux conclusions inverses si l'indicateur est de type II (HI/I^-) (figure 9).

b) Influence du solvant sur la spécificité du dosage

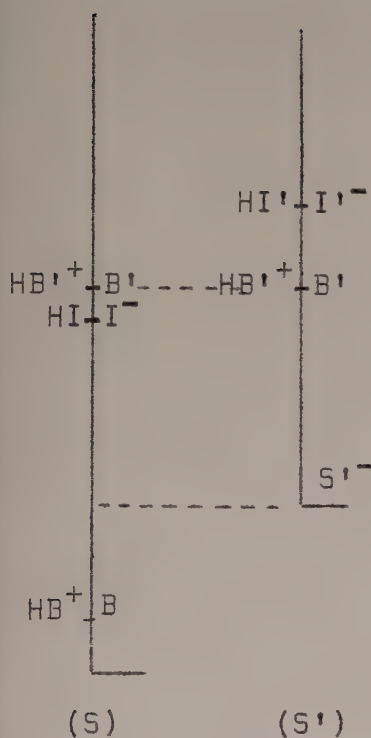


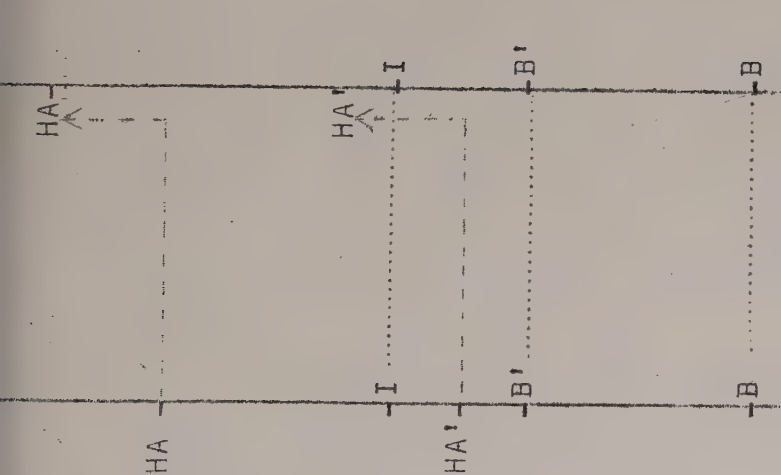
Figure 10

Le solvant peut intervenir par sa constante de solvolysse : étudions par exemple le cas, représenté sur la figure 10, du dosage d'une base B par un acide HA ; dans un solvant S limitant par son acidité l'échelle des pK_A au-dessous de B, on peut utiliser l'indicateur HI pour le dosage ; la base B', située sur l'échelle loin de B et au-dessus de HI, n'apporte pas d'erreur ; par contre, dans un solvant S' limitant par son acidité l'échelle au-dessus de B, d'une part il peut apparaître une compétition entre S'-et B' vis-à-vis du réactif titrant, d'autre part il faut employer l'indicateur HI', plus acide que HI, pour obtenir une précision suffisante ; l'impureté B' se trouve alors sur l'échelle au-dessous de HI', et elle apporte une erreur au dosage.

La constante diélectrique du solvant peut elle aussi exercer une influence sur la spécificité du dosage ; étudions par exemple l'influence d'impuretés HA' et B' sur le dosage d'une base B par un acide HA, dans deux solvants S et S', de même basicité, mais de constantes diélectriques différentes ($\epsilon' > \epsilon$) ; les divers cas possibles sont schématisés sur la figure 11 :

- si l'indicateur est de type I ($HI \rightleftharpoons I^-$), les impuretés basiques de type HB^+/B , conservent la même position par rapport à I quelle que soit la constante diélectrique du solvant ; par contre les impuretés acides de type HA/A^- interfèrent d'autant plus dans le dosage que la constante diélectrique du solvant est plus élevée ; ainsi l'acide HA', situé au-dessous de I sur l'échelle des pK_A dans le solvant S, passe au-dessus sur l'échelle des pK_A dans le solvant S'.

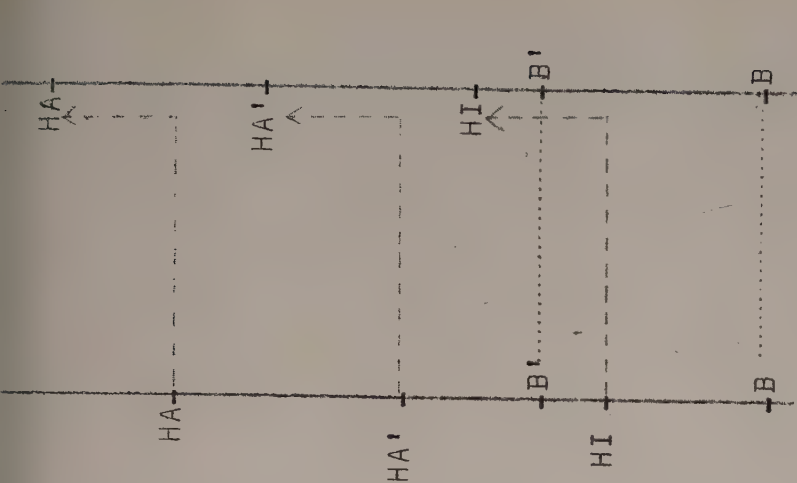
Dosages en milieu
dissociant



$S(\epsilon)$ $\epsilon' > \epsilon$ $S'(\epsilon')$

Dosage de la base B
par l'acide HA Indicateur
de type I

Dosage de l'acide HA
par la base B Indicateur
de type II



$S(\epsilon)$ $\epsilon' > \epsilon$ $S'(\epsilon')$

Indicateur
de type II

Indicateur
de type I

Figure 11

- si l'indicateur est de type II (HI/I^-), son acidité est d'autant plus grande que la constante diélectrique du solvant est plus élevée ; certaines impuretés basiques de type HB^+/B telles que B' , situées au-dessus de HI sur l'échelle des pK_A dans le solvant S , se trouvent au-dessous sur l'échelle des pK_A dans le solvant S' ; par contre la position des impuretés acides de type HA/A^- par rapport à l'indicateur reste inchangée.

On peut effectuer un raisonnement parallèle pour étudier l'influence de la constante diélectrique du solvant sur la spécificité du dosage d'un acide par une base.

En conclusion, le choix d'un solvant dissociant pour un dosage doit être guidé par les considérations suivantes :

- si la substance à doser est une base, la distance sur l'échelle des pK_A entre cette base et la limitation par la basicité du solvant doit être la plus grande possible ; l'acide titrant doit être de préférence placé au-dessus de cette limitation ; réciproquement, si la substance à doser est un acide, la distance sur l'échelle entre cet acide et la limitation par l'acidité du solvant doit être la plus grande possible ; la base titrante doit être de préférence placée au-dessous de cette limitation.

- il est possible, en remplaçant un solvant dissociant par un autre de constante diélectrique différente, ou en les mélangeant de manière à obtenir un solvant de constante diélectrique intermédiaire, de faire varier sur l'échelle des pK_A les distances entre substance à doser, réactif titrant, indicateur, et éventuellement impuretés ; on peut ainsi orienter les dosages vers une meilleure précision ou vers une meilleure spécificité, suivant le résultat recherché.

D - CHOIX D'UNE METHODE DE MICRODOSAGE PROTOMETRIQUE DES ALCALOÏDES
DANS UN EXTRAIT VEGETAL, EN PRESENCE D'UN INDICATEUR COLORE

§ I - Choix du solvant

La plupart des alcaloïdes sont solubles dans de nombreux solvants non dissociants : chloroforme, éther éthylique, tétrahydrofuranne, acide acétique, pyridine, etc..., ou dissociants : alcools, diméthylformamide, etc...

Les premiers présentent sur les seconds, l'avantage d'être beaucoup plus sélectifs. Ainsi la plupart des sels qui peuvent souiller un extrait alcaloïdique, soit qu'ils préexistent dans la plante, soit qu'ils aient été apportés par le mode d'extraction (acétate ou tartrate d'ammonium ou de sodium), sont très solubles dans le méthanol, et presque insolubles dans le chloroforme. Par contre les solvants dissociants augmentent la réactivité des alcaloïdes par rapport aux acides de type HA/A^- , élargissant ainsi la gamme d'acides titrants utilisables pour leur dosage.

La sélectivité nous semblant une qualité prépondérante pour le problème envisagé, nous avons utilisé de préférence des solvants non dissociants pour effectuer nos dosages d'alcaloïdes. Nous avons écarté les solvants acides tels que l'acide acétique, qui abaissent la basicité des alcaloïdes et nécessitent l'usage d'un indicateur situé très haut sur l'échelle d'acidité (violet de méthyle, violet cristal) diminuant ainsi la spécificité du dosage. Nous avons aussi rejeté les solvants basiques tels que la pyridine, qui abaissent l'acidité apparente des acides titrants et nuisent ainsi à la précision des dosages.

§ II - Choix de l'indicateur

Nous avons déjà indiqué que le dosage est d'autant plus précis que la distance entre indicateur et alcaloïde à doser

est plus grande sur l'échelle unique ; mais qu'il est d'autant plus spécifique que cette distance est plus petite. Il est donc nécessaire de trouver un moyen terme, en s'aidant des tableaux VII et IX. La place des alcaloïdes sur l'échelle unique en milieu non dissociant n'ayant pas été déterminée à notre connaissance, nous avons dû d'abord opérer par tâtonnements.

Compte tenu de travaux antérieurs et des expériences que nous avons effectuées, nous avons été amenés à formuler certaines considérations importantes :

Le jaune de méthyle est un bon indicateur de type I pour le dosage des alcaloïdes dans beaucoup de solvants non dissociants. Son ΔpK , dans le chloroforme, avec les alcaloïdes courants, est compris entre 2 et 7 environ, ce qui permet un dosage précis ; cet indicateur a été employé par différents auteurs pour le dosage protométrique des alcaloïdes.

L'étude de la spécificité du dosage, effectuée précédemment, a montré qu'en présence d'impuretés basiques, le dosage d'un alcaloïde est plus spécifique avec un indicateur de type II (tableau IX). La fonction acide faible de certains colorants dérivés de la phénolphthaléine ou de la phénolsulfonephthaléine, tels que le bleu de bromophénol et le vert de bromocrésol, obéit alors aux conditions requises.

Mais une difficulté particulière apparaît lorsqu'on utilise ces derniers colorants ; ils présentent, en effet, à côté de leur fonction acide faible, une fonction acide fort qui peut neutraliser une partie, voire la totalité de l'alcaloïde, suivant les concentrations relatives d'alcaloïde et de colorant dans la solution. Le dosage est alors entaché d'une erreur par défaut. Le blocage de la

fonction acide fort par estérification permet d'éviter cette erreur ; ainsi DAVIS préconise le Magenta E, ester éthylique de la tétrabromophénolphtaléine (8) .

Un autre moyen peut être envisagé ; se servir de la fonction acide fort du colorant comme acide titrant et de la fonction acide faible comme indicateur. Mais cela n'est possible que si la distance sur l'échelle entre les deux fonctions acide est suffisante pour obtenir une bonne précision ; ainsi d'après le tableau VII cette distance doit être de 5 unités pK pour permettre le dosage d'une base en solution $10^{-3}M$ avec une précision de 99 %. Cette méthode présente l'avantage d'éviter la préparation des solutions classiques d'acides forts, tels que l'acide perchlorique qui n'existe dans le commerce qu'en solution aqueuse, l'acide p. toluène-sulfonique, ou l'acide trichloracétique qui sont très hygroscopiques. Les colorants les plus appropriés se trouvent au contraire dans le commerce sous une forme anhydre pratiquement pure, directement utilisable.

Pour déterminer les possibilités d'emplois et les conditions d'applications de cette dernière méthode, nous avons été amenés à étudier théoriquement et expérimentalement les réactions entre les alcaloïdes et les colorants dérivés de la phénolsulfonephtaléine :

- sur un plan qualitatif car la couleur des paires, des triplets ou des agrégats d'ions formés entre alcaloïdes et colorants varie avec la nature de l'alcaloïde, celle du colorant, celle du solvant et les concentrations relatives des espèces réagissantes ;

- sur un plan quantitatif pour fixer la précision du dosage.

CHAPITRE II

ETUDE QUALITATIVE DES REACTIONS ENTRE ALCALOIDES ET COLORANTS DERIVES DE LA PHENOLSULFONEPHTHALEINE

A - LES SUBSTANCES REAGISSANTES

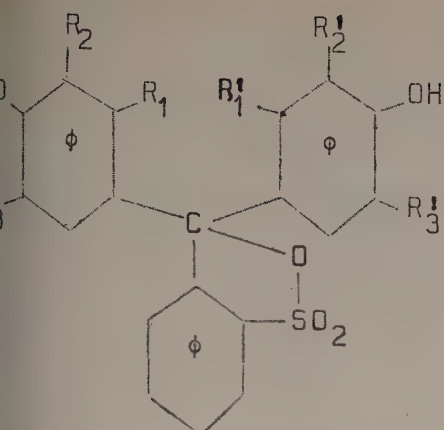
I - Les colorants

La phénolsulfonephtaléine est la γ -sultone de l'acide α, α -bis (4-hydroxy-phényl) α -hydroxy-o-toluène sulfonique. Les colorants qui en dérivent, indiqués dans le tableau X diffèrent par la nature et le nombre des substituants portés par les cycles benzéniques. Nous les désignerons le plus souvent par leurs initiales rappelées sur le tableau entre parenthèses.

Nous avons utilisé des produits commerciaux que nous avons essayé de purifier par recristallisation de la forme diacide dans un solvant inerte tel que le benzène, où ils donnent des solutions presque incolores. Leur solubilité, faible à froid, est à peine augmentée à chaud ; cette purification est donc difficile. Dans la plupart des cas nous avons employé des produits commerciaux dits purs* conservés au dessiccateur sur anhydride phosphorique après avoir vérifié qu'ils donnaient les mêmes résultats que les produits recristallisés.

La solubilité des colorants dans le chloroforme décroît dans l'ordre suivant : bleu de bromophénol, vert de bromocrésol (dont on peut préparer des solutions $10^{-2}M$), pourpre

* Produits Merck et produits R.A.L. (Kuhlmann).



T A B L E A U X

	$R^1, R^{1'}$	$R^2, R^{2'}$	$R^3, R^{3'}$
<u>Rouge de phénol (R.P.)</u> (phénolsulfonephthaléine)	H	H	H
<u>Rouge de chlorophénol (R.C.P.)</u> (dichlorophénolsulfonephthaléine)	H	Cl	H
<u>Rouge de bromophénol (R.B.P.)</u> (dibromophénolsulfonephthaléine)	H	Br	H
<u>Bleu de bromophénol (B.B.P.)</u> (tétrabromophénolsulfonephthaléine)	H	Br	Br
<u>Rouge de crésol (R.C.)</u> (diméthylphénolsulfonephthaléine)	H	CH ₃	H
<u>Pourpre de bromocrésol (PBC)</u> (dibromodiméthylphénolsulfonephthaléine)	H	CH ₃	Br
<u>Vert de bromocrésol (V.B.C.)</u> (tétrabromodiméthylphénolsulfonephthaléine)	CH ₃	Br	Br
<u>Bleu de thymol (B.T.)</u> (diméthyl-diisopropylphénolsulfonephthaléine)	CH ₃	H	CH(CH ₃) ₂
<u>Bleu de bromothymol (B.B.T.)</u> (dibromodiméthyl-diisopropylphénolsulfonephthaléine)	CH ₃	Br	CH(CH ₃) ₂

de bromocrésol, bleu de bromothymol (dont on peut préparer les solutions $10^{-3}M$), rouge de chlorophénol (peu soluble), bleu de thymol et rouge de phénol (presque insolubles). Ils sont moins solubles dans le benzène que dans le chloroforme, mais ils sont plus solubles dans le méthylal, le dioxanne et le tétrahydrofuranne.

Ces colorants donnant des composés de couleur bleue avec les sels d'ammonium quaternaire, il faut éviter les détergents usuels pour le nettoyage de la verrerie ; celle-ci a toujours été rincée plusieurs fois avec de l'eau distillée avant séchage.

Dans les récipients en verre ordinaire, ces colorants se fixent sur les parois en formant des composés bleus ou orangés. Nous avons utilisé exclusivement de la verrerie Pyrex pour la conservation des solutions, ainsi que pour l'étude des réactions.

II - Les alcaloïdes

Les alcaloïdes étudiés sont mentionnés sur le tableau XI.

Certains produits commerciaux ont été employés sans purification : atropine, strychnine, alcaloïdes des quinquinas (Prolabo), cocaïne, ésérine, papaverine, narcéine, caféine, solanine (C.P.F.), colchicine (B.L.B.), tomatine (N.B.C.). D'autres ont dû être recristallisés dans l'éther anhydre : codéine, éphédrine (C.P.F.). Certains ont été précipités à partir de leurs sels en solution aqueuse et recristallisés : brucine (sulfate), yohimbine, émétine, morphine, éthylmorphine, diamorphine (chlorhydrates), aconitine (nitrate), provenant tous de la C.P.F. Enfin certains alcaloïdes, liquides ou visqueux, ont été déplacés de leurs sels par l'ammoniaque, et extraits par le chloroforme ; la solution a été desséchée sur sulfate de sodium anhydre puis évaporée ; le

T A B L E A U X I

Groupe	Alcaloïde	Nombre de fonctions amines
Pyridine	Arécoline	1
Tropane	Atropine	1
	Scopolamine	1
	Cocaïne	1
Nor-lupinane	Spartéine	2
Indole	Esérine	2
	Strychnine	2
	Brucine	2
	Yohimbine	2
Quinoléine	Quinine	2
	Quinidine	2
	Cinchonine	2
	Cinchonidine	2
Isoquinoléine	Emétine	2
	Papavérine	1
	Narcéine	1
Phénanthrène	Morphine	1
	Codéine	1
	Ethylmorphine	1
	Diacétylmorphine	1
Tropolone	Colchicine	1 fonction amide
Imidazole	Pilocarpine	2
Purine	Caféine	4
	Théobromine	4
	Théophylline	4
Alcaloïdiques	Solanine	1
stéroïdiques	Solanidine	1
	Tomatine	1
	Tomatidine	1
Autres alcaloïdes	Aconitine	1
	Ephédrine	1
Anesthésique local	Procaïne	1

résidu a été conservé à l'obscurité dans un dessiccateur à anhydride phosphorique ; nous avons opéré ainsi pour l'arécoline, la scopolamine, la spartéine, la pilocarpine et la procaïne, que nous avons étudiées peu de temps après leur séparation.

III - Les solvants

Les solvants ont été purifiés et rectifiés ; nous décrirons les techniques utilisées pour chacun d'eux au cours de leur étude particulière (chapitre IV).

B - LES REACTIONS

De nombreuses hypothèses ont été émises pour expliquer les changements de couleur des colorants dérivés de la phénolphtaléine ou de la phénolsulfonephtaléine. Une analyse bibliographique en a été faite en 1941, par Mme RAMART-LUCAS (31) , qui a ensuite étudié les transformations de ces colorants dans divers solvants (32, 33) . En 1948, DAVIS et coll. ont publié une étude détaillée des réactions entre bases organiques aliphatiques et colorants dérivés de la phénolsulfonephtaléine dans le benzène (9) . Ils donnent de ces réactions une interprétation basée sur la théorie de LEWIS des acides et des bases.

De nombreux auteurs ont proposé des méthodes de dosage des sels d'ammonium quaternaire par l'emploi de ces colorants ; la bibliographie de ces méthodes a été faite par COUERBE (5) et DEMAY (11) . Ces colorants ont aussi été utilisés en milieu diphasique chloroforme/eau ou benzène/eau pour le dosage colorimétrique ou volumétrique des alcaloïdes, (6, 7, 39, 40) , voire pour leur identification (41)

Par contre l'étude générale de leurs réactions avec les alcaloïdes en milieu non aqueux monophasique n'a pas été effectuée à notre connaissance, et nous l'avons abordée expérimentalement.

I - Expériences de base

Lorsqu'à 1 ml de solution 10^{-3} M d'atropine dans le chloroforme on ajoute goutte à goutte une solution de bleu de bromophénol de même concentration molaire, il apparaît une coloration violacée qui passe au rouge, à l'orangé et vire au jaune pâle quand on a ajouté exactement 1 ml de solution de colorant. On obtient des résultats identiques en remplaçant l'atropine par d'autres alcaloïdes ; seule la coloration foncée intermédiaire change avec la nature de ceux-ci ; ainsi elle est rouge avec la strychnine, verte avec l'aconitine, bleu avec la spartéine ; elle est en général d'autant plus intense que l'alcaloïde est plus basique, et que sa concentration molaire est plus élevée ; avec les alcaloïdes faiblement basiques tels que pilocarpine et papavérine, elle est difficile à percevoir en solution 10^{-3} M ; elle n'apparaît pas avec la caféine, la colchicine et la narcéine.

Dans tous les cas, excepté celui de l'émétine, le virage au jaune pâle se produit au moment précis où l'on a ajouté à l'alcaloïde une quantité équimoléculaire de colorant.

C'est avec le bleu de bromophénol que l'apparition de cette coloration foncée est la plus nette. Elle est aussi très sensible quand on ajoute une solution de vert de bromocrésol à une solution d'alcaloïde fortement basique. Le rouge de chlorophénol et le pourpre de bromocrésol ne donnent une légère teinte foncée qu'avec les bases fortes en solution concentrée. Le bleu de bromothymol, le bleu de thymol et le rouge de phénol ne donnent de coloration foncée avec aucun alcaloïde en milieu peu dissociant.

II - Etude spectrophotométrique

Nous avons enregistré à l'aide d'un spectrophotomètre Graphi-Spectral* les spectres d'absorption des solutions colorées obtenues en ajoutant à une même quantité de colorant des quantités croissantes d'alcaloïdes dans des solvants divers.

Suivant les proportions de colorant et d'alcaloïde les spectres changent d'aspect :

1° Lorsque le colorant est en excès par rapport à l'alcaloïde la solution est jaune et présente une seule bande d'absorption dans le visible située entre 400 et 440 mμ ; la longueur d'onde d'absorption maximum varie peu avec la nature du colorant ou du solvant ; le tableau XII indique la valeur de cette longueur d'onde dans différents cas.

Dans les mêmes conditions, les colorants dérivés de la phénolphthaléine présentent tous cette bande d'absorption (31) ; on la retrouve dans le spectre de l'ester éthylique de la tétrabromophénolphthaléine, ou Magenta E (8,33) .

Les solvants peu dissociants ont peu d'influence sur la longueur d'onde étudiée ; seul le solvant de GYENES (solution à 20 % de phénol dans le tétrachlorure de carbone) (20) la modifie sensiblement. Dans les solvants dissociants la bande d'absorption est déportée vers l'infra-rouge.

La figure 12 représente les bandes d'absorption du composé formé dans le chloroforme entre l'atropine $10^{-5}M$ et divers colorants en concentration légèrement supérieure. La figure 13 illustre l'influence du solvant sur la position de la bande d'absorption du composé formé entre atropine et bleu de bromophénol.

T A B L E A U X I I

(Longueur d'onde d'absorption maxima du composé jaune)

Variations avec la nature du colorant

Colorant:	Base	Solvant	Longueur d'onde d'absorption du composé jaune
B.B.P.	Atropine	Chloroforme + 0,5 % d'alcool	415 mμ
R.C.P.	"	"	410
P.B.C.	"	"	410
V.B.C.	"	"	415
B.B.T.	"	"	415

Variations avec la nature du solvant

Colorant:	Base	Solvant	Longueur d'onde d'absorption du composé jaune
B.B.P.	Atropine	Benzène	410
"	"	Chlorobenzène	410
"	"	Ether éthylique	410
"	"	Dioxanne	410
"	"	Tétrahydrofuranne	408
"	"	Méthylal	405
"	"	Acétate d'éthyle	405
"	"	Acétone	405
"	"	Acide acétique	415
"	"	Tétrachlorure de carbone + 20 % de phénol (solvant de GYENES)	440
"	Tomatine	"	440
"	Atropine	Méthanol	425
"	"	Ethanol	430

Variations avec la nature de l'alcaloïde :

Aux erreurs d'expériences près, la longueur d'onde d'absorption du composé jaune est indépendante de la nature de l'alcaloïde.

D_{opt.}

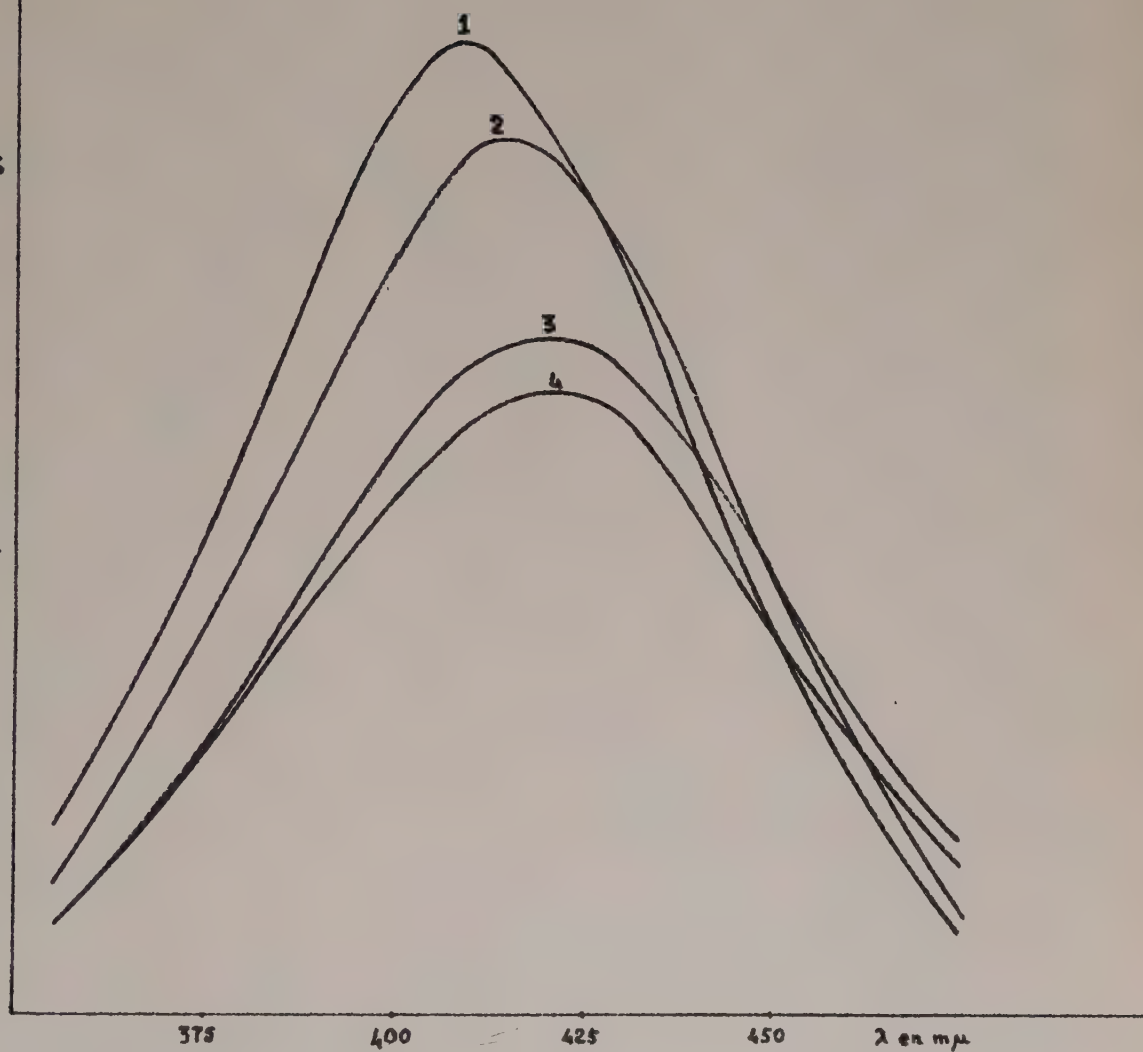
Figure 12

0,8

0,6

0,4

0,2



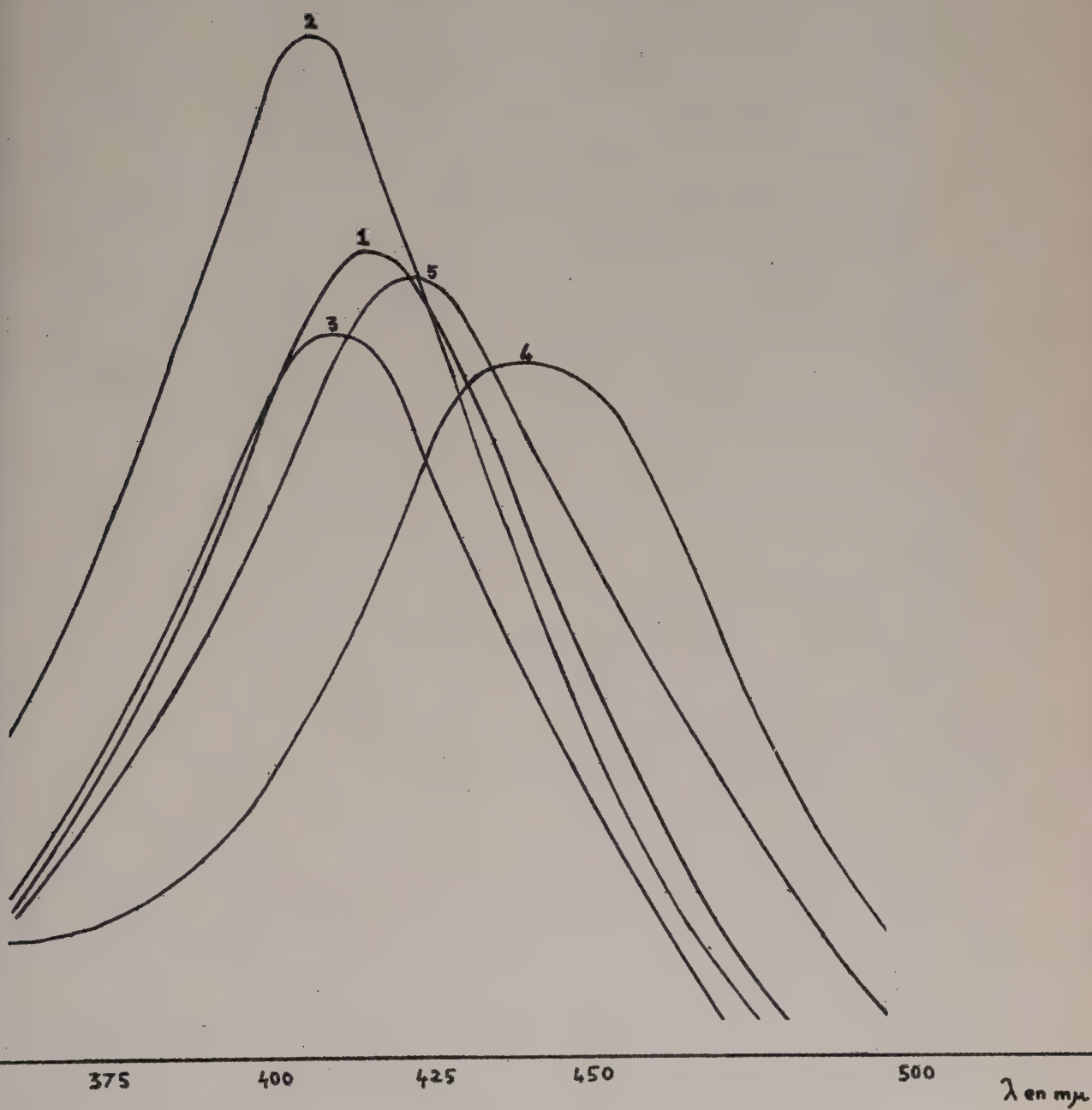
1 Pourpre de bromocrésol

3 Vert de bromocrésol

2 Bleu de bromophénol

4 Bleu de bromothymol

Figure 13



1 Chloroforme

2 Méthylal

3 Tétrahydrofuranne

4 Solvant de GYENES

5 Méthanol

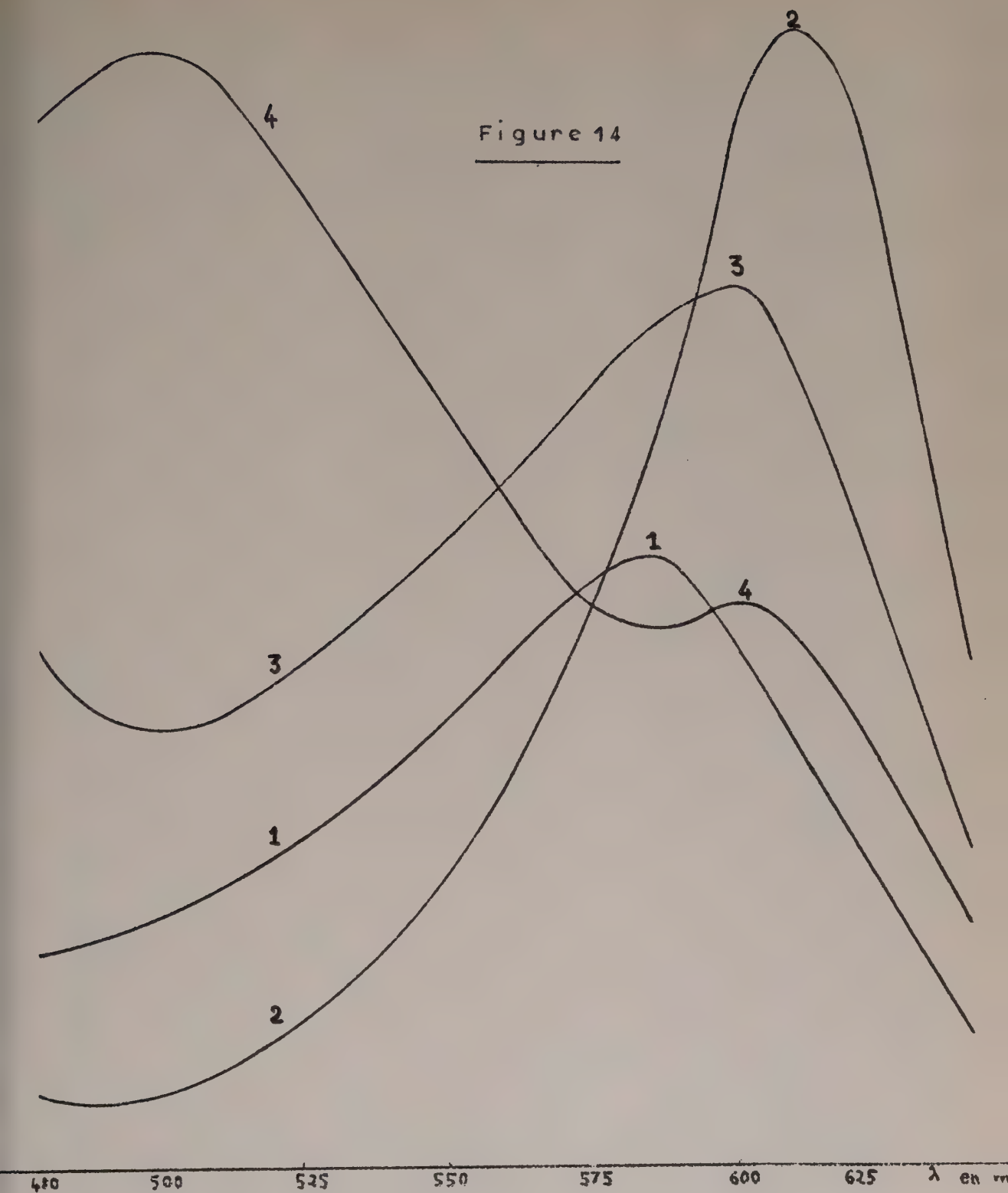
2° Lorsque l'alcaloïde est en léger excès sur le colorant, la solution présente une teinte foncée, rouge, verte, violacée ou bleue, suivant la nature de l'alcaloïde, du colorant et du solvant. A côté de la bande située entre 400 et 440 m μ , on en observe une seconde, dont la longueur d'onde varie entre 530 et 610 m μ . Le tableau XIII indique la valeur de cette longueur d'onde dans différents cas.

Les longueurs d'onde portées sur le tableau XIII ont été déterminées par plusieurs mesures successives sur des solutions d'alcaloïdes et de colorants en concentrations relatives variables, où la concentration en alcaloïde était comprise entre 0,5 10⁻⁴M et 10⁻³M, celle du colorant restant voisine de 10⁻⁵M. La précision de la mesure est de $\pm$ 3 m μ .

Le composé foncé précipite parfois immédiatement après sa formation ; il est alors impossible de mesurer sa longueur d'onde d'absorption maximum ; lorsque le colorant est le bleu de bromophénol, on observe un tel précipité avec la plupart des alcaloïdes dans l'éther et un certain nombre d'entre eux dans le méthylal, avec la morphine dans la plupart des solvants peu dissociants, avec la tomatine et la solanine en concentrations supérieures à 10⁻³M dans le mélange de GYENES, seul solvant peu dissociant dans lequel ces gluco-alcaloïdes soient solubles.

D'après le tableau, la détermination de la longueur d'onde d'absorption du composé foncé doit permettre d'orienter l'identification d'un alcaloïde en solution dans un solvant peu dissociant pur. L'appréciation visuelle de la couleur du composé foncé est insuffisante, car cette couleur est due à la composition de la coloration jaune et de la coloration foncée, dont les intensités relatives varient avec la concentration en colorant et en alcaloïde, et avec la basicité de celui-ci.

Figure 14



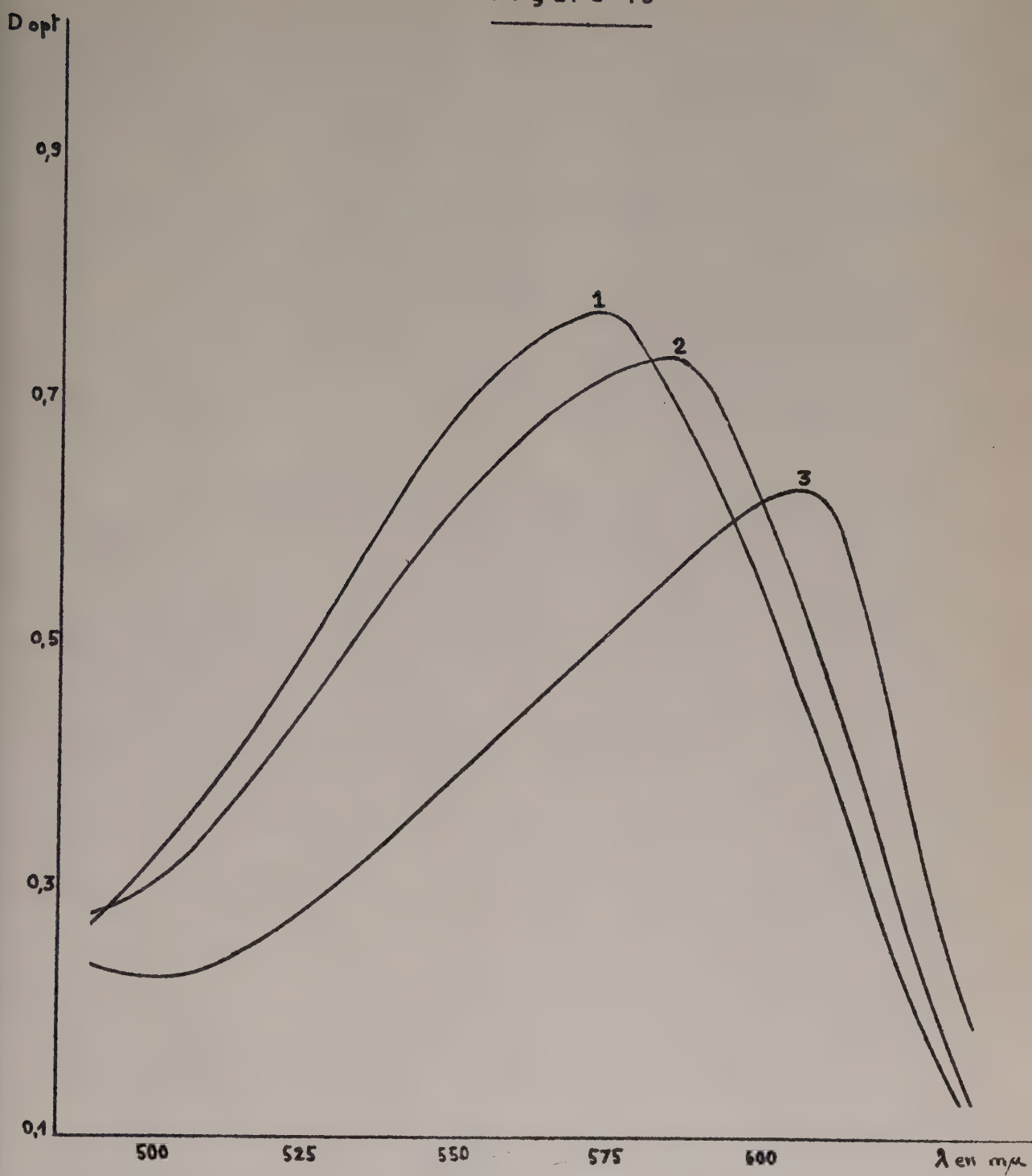
1 Atropine

3 Procaine

2 Aconitine

4 Emétine

Figure 15



1 - Chlorobenzène

2 - Chloroforme

3 - Solvant de GYENES

La figure 14 représente les spectres d'absorption de solutions d'alcaloïdes ($0,5 \cdot 10^{-4}M$) et de B.B.P. ($10^{-5}M$) dans le chloroforme. La figure 15 illustre l'influence du solvant sur la réaction entre l'atropine et le B.B.P.

3° Lorsque l'alcaloïde est en grand excès sur le colorant, la coloration est rouge, violette ou bleue.

La première bande d'absorption (400 à 440 $m\mu$) s'estompe tandis qu'il apparaît une nouvelle bande entre 370 et 400 $m\mu$. Le rapport moléculaire-limite alcaloïde/colorant à partir duquel se produit cette modification dépend de trois facteurs :

- la basicité de l'alcaloïde : pour les bases fortes, atropine et quinine, en solution $10^{-3}M$, dans le chloroforme, avec le B.B.P., la bande à 415 $m\mu$ disparaît dès que le rapport moléculaire est supérieur à 5/1 ; pour la codéine, base plus faible, à même concentration, la bande à 415 $m\mu$ ne s'estompe que si le rapport moléculaire est supérieur à 100/1 ;

- la concentration de la solution en alcaloïde : ainsi le rapport moléculaire-limite n'est plus que de 5/1, pour la codéine en solution $10^{-2}M$ dans le chloroforme, avec le B.B.P. ;

- la nature du solvant : on observe un abaissement du rapport moléculaire-limite lorsque l'on remplace le chloroforme par du benzène.

Les figures 16 et 17 représentent les spectres de solutions $0,5 \cdot 10^{-4}M$ de B.B.P. dans le chloroforme en présence de quantités croissantes de codéine et d'atropine.

Dans le cas de la codéine (figure 16), les maxima d'absorption se situent constamment à 415 et à 560 $m\mu$ et la présence d'un point isobestique à 465 $m\mu$ témoigne de la formation de deux composés seulement ; le rapport moléculaire limite maximum étant 24/1 pour une concentration en alcaloïde inférieure à $10^{-3}M$, d'après le mode opératoire fixé, on ne se

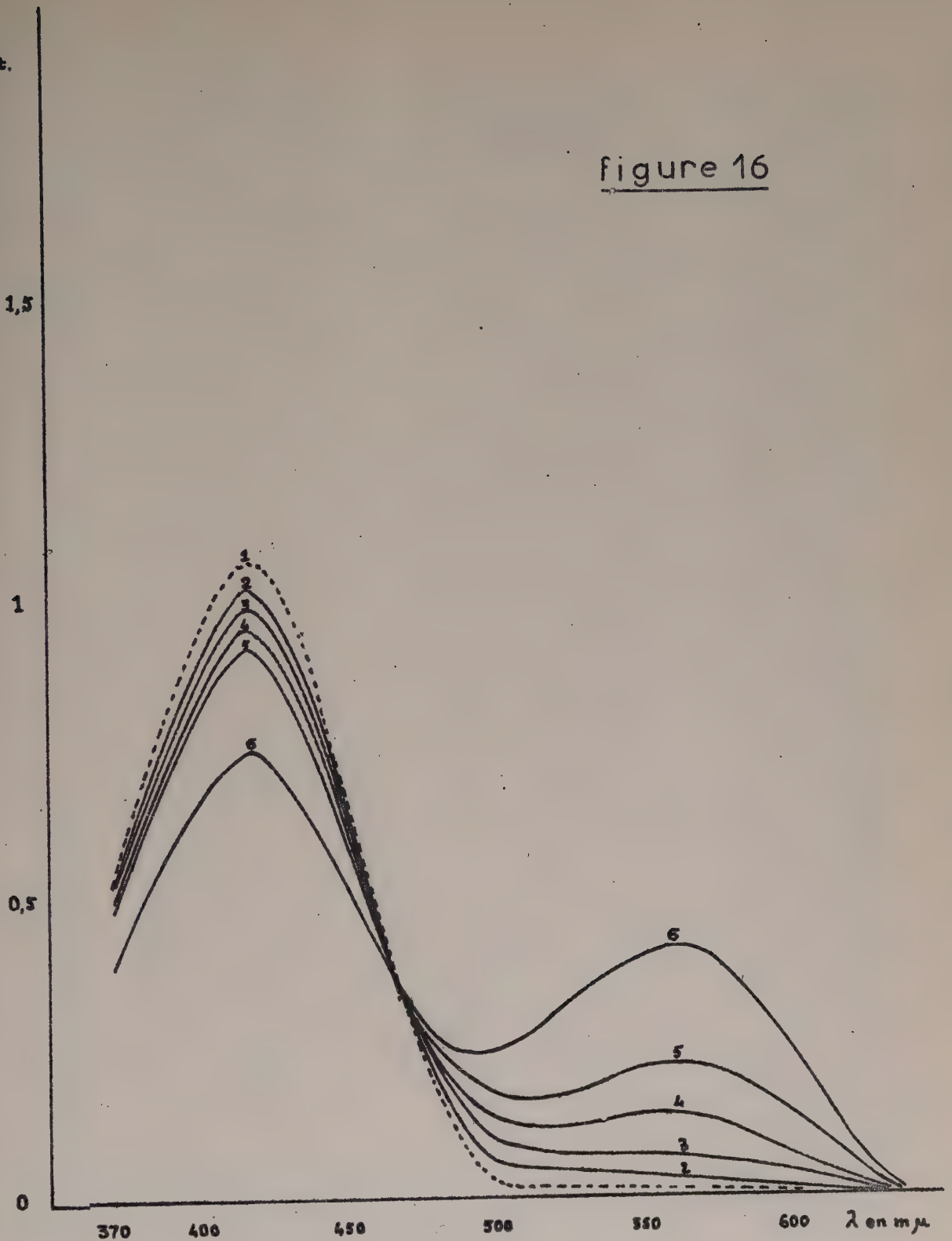
trouve pas dans les conditions permettant la disparition de la bande à 415 m μ .

Pour l'atropine (figure 17), on observe deux bandes à 415 et à 580 m μ tant que l'alcaloïde n'est qu'en léger excès par rapport au colorant ; l'ensemble des courbes présente un point isobestique à 470 m μ . Lorsque le rapport moléculaire est supérieur à 5/1 une nouvelle bande d'absorption apparaît entre 370 et 400 m μ tandis que la bande à 415 m μ s'estompe.

La figure 18 montre l'influence de la concentration en alcaloïde sur la valeur-limite du rapport moléculaire. Elle représente les spectres d'absorption d'une solution chloroformique d'atropine de concentration 10^{-3} M environ et de bleu de bromophénol $0,2 \cdot 10^{-3}$ M, et de ses dilutions au $\frac{1}{2}$, au $\frac{1}{3}$, au $\frac{1}{4}$ et au $\frac{1}{10}$; la solution-mère présente une bande d'absorption vers 380 m μ ; cette bande disparaît progressivement avec les dilutions croissantes pour laisser place à la bande à 415 m μ .

4° Dans son étude des réactions entre Magenta E et bases organiques dans les solvants inertes (10), DAVIS décrit deux réactions. La première dite primaire donne naissance à un composé foncé, de couleur Magenta, dont la longueur d'onde d'absorption est de 540 m μ environ ; elle se produit lorsque le colorant est en léger excès sur la base. La seconde dite secondaire donne un composé bleu, absorbant vers 600 m μ ; elle a lieu quand le Magenta E est en grand excès sur la base organique, où lorsque l'on ajoute au solvant inerte de l'alcool ou de la pyridine. Le rapport-limite des concentrations molaires base/colorant, pour lequel apparaît ce déplacement de la bande, varie avec la nature de la base.

figure 16



Numéro du tube

B B P 10^{-3} M (en ml.)

Codéine 10^{-3} M (en ml.)

Chloroforme

①

②

③

④

⑤

⑥

1

1

1

1

1

1

1

1,5

3

6

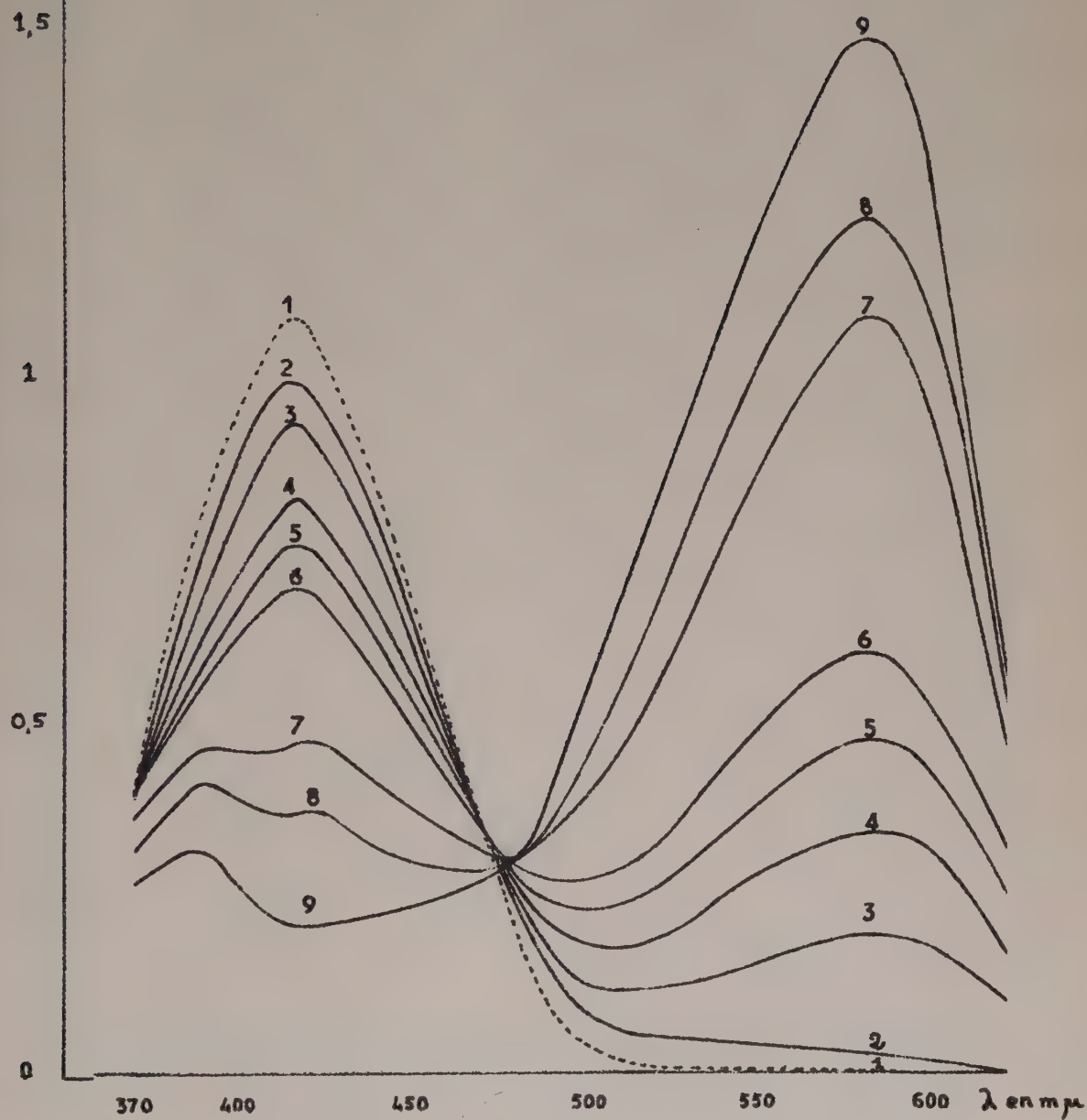
9

24

Q. S. p. 20 ml.

D opt.

Figure 17



<u>Numéro du tube</u>	:	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
BBP $10^{-3}M$ (en ml.)	:	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Atropine $10^{-3}M$ (en ml.)	:	1	1,1	1,5	2	2,5	3	6	9	18
Chloroforme	:	Q S p 20 ml.								

D_{opt}Figure 18

1,5

1

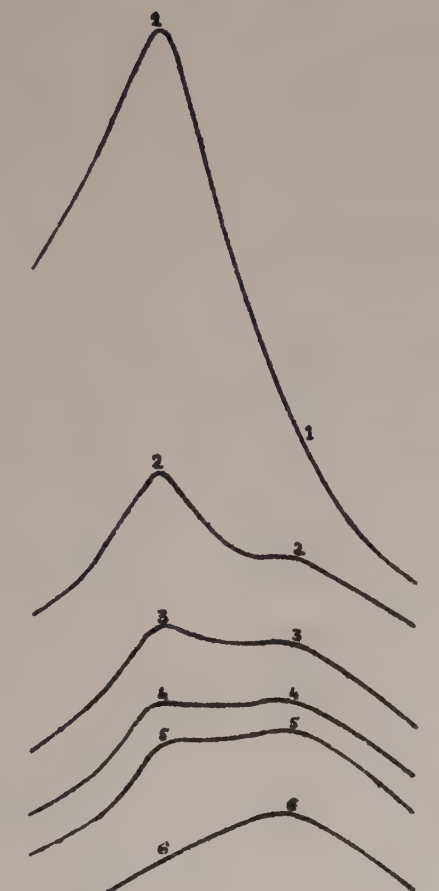
0,5

0

350

400

450

 λ en μ 

Solution mère: BBP 10^{-3} M: 3ml + Atropine 10^{-3} M: 15ml
(solvant: chloroforme)

Numéro du tube: (1) (2) (3) (4) (5) (6)

Dilution de la
solution mère — 1/2 1/3 1/4 1/5 1/10

Au cours de notre étude sur les alcaloïdes, nous n'avons jamais observé de variation notable de la longueur d'onde d'absorption du composé foncé lorsque l'on modifiait la concentration en alcaloïde et en colorant dans un solvant pur. Ainsi nous avons vérifié que cette longueur d'onde reste égale à la valeur indiquée dans le tableau XIII pour le composé foncé formé entre quinidine ou atropine et bleu de bromophénol, dans le chloroforme ou le tétrahydrofurane, quand on fait varier la concentration en alcaloïde de $10^{-1}M$ à $10^{-5}M$, la concentration en colorant restant voisine de $10^{-5}M$.

Nous n'avons cependant porté sur le tableau XIII que les longueurs d'onde des composés foncés obtenus dans des solutions diluées d'alcaloïdes ($0,5 \cdot 10^{-4}M$ à $10^{-3}M$) ; dans le cas des bases faibles, ou se comportant comme telles, nous avons dû opérer sur des solutions plus concentrées en alcaloïdes (10^{-2} ou $10^{-1}M$) pour localiser nettement la longueur d'onde du composé foncé ; nous avons réuni sur le tableau XIV les résultats obtenus dans ces conditions.

Par contre, nous avons observé comme DAVIS un glissement de la bande foncée vers l'infra-rouge lorsque l'on ajoute du méthanol, de l'éthanol, de la pyridine ou du phénol à la solution d'alcaloïde et de colorant dans un solvant inerte. Ainsi la bande d'absorption du composé foncé dans le solvant de GYENES est supérieure à $600 m\mu$ pour tous les alcaloïdes étudiés. D'autre part, une solution ancienne de strychnine, de quinine ou d'autres alcaloïdes $10^{-3}M$ dans le chloroforme RP, qui contient 0,5 % d'éthanol, prend une coloration bleue et absorbe vers $610 m\mu$ quand on lui ajoute quelques gouttes de solution $10^{-3}M$ de bleu de bromophénol ; elle reprend sa teinte rouge habituelle lorsque la concentration relative en colorant est plus élevée.

(Longueur d'onde d'absorption maxima du composé foncé entre
bleu de bromophénol et alcaloïdes dans différents solvants)

Solvants	A L C A L O I D E S			
	Atropine	Sparteïne	Strychnine	Quinine : Cinchonidine :
Benzène	565	615	555	570
Chlorobenzène	570	615	555	570
Chloroforme	585	610	560	560
Ether éthylique	610	620	625	560
Tétrahydrofuranne	560	610	555	555
Dioxanne	565	610	550	550
Méthylal	560	610	550	540
Acétate d'éthyle	560	610	555	555
Acétone	605		605	605
Solvant de Gyenes	605	610	602	608
Méthanol	595	595	595	595
Ethanol	600	600	600	600

TABLEAU XIII (Suite)

(Longueur d'onde d'absorption maximale du composé foncé entre bleu de bromophénol et alcaloïdes dans différents solvants)

Solvants	ALCALOÏDES				
	Éméline	Morphine	Codéine	Aconitine	Tomatine : Procaine
Benzène	{ 615 ?	:	560	615	595
Chlorobenzène	{ 615 ?	:	560	615	595
Chloroforme	{ 500 600 605	:	565	610	595
Ether éthylique	{ ↓ 600 550 600 565 610	:	↓ 555	↓ 605	↓ 565 558
Tétrahydrofuranne	{ ↓ 600 550 600 565 610	560	555	605	565
Dioxanne	{ ↓ 600 550 600 565 610	:	560	605	↓
Méthylal	{ ↓ 605 565	:	555	605	565
Acétate d'éthyle	{ ↓ 605 565	:	610	605	565
Acétone	{ ↓ 605	:	608	610	608
Solvant de Gyenes	{ ↓ 605	565	595	595	595
Méthanol	{ ↓ 605	600	600	600	600
Ethanol	{ ↓ 605	:	600	600	600

↓ : précipitation du composé foncé, ne permettant pas la mesure de la longueur d'onde d'absorption maximale.

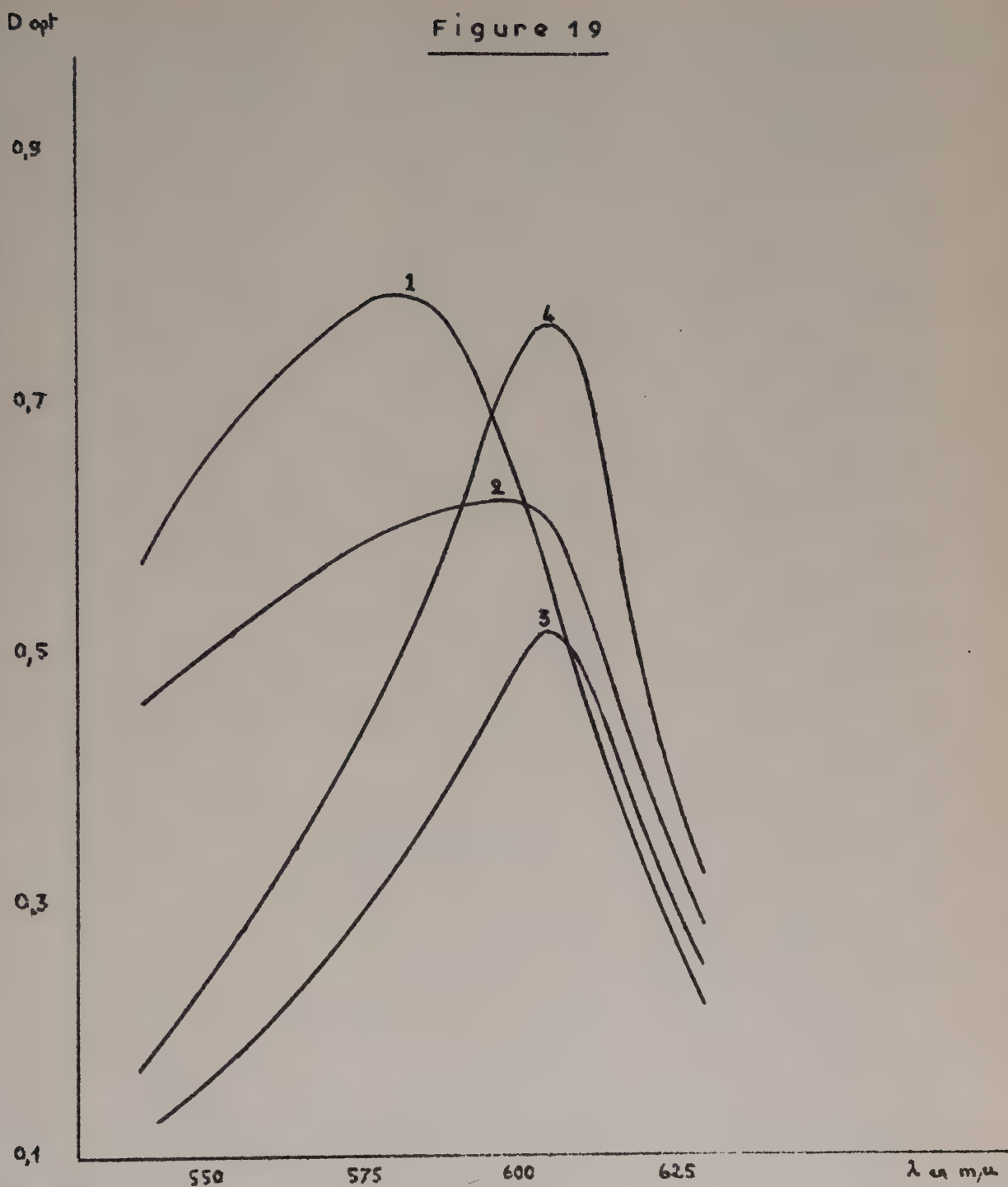
(Longueur d'onde d'absorption maxima du composé foncé entre bleu de bromophénol et alcaloïdes dans différents solvants)

ALCALOÏDES

Solvants	Cocaïne	Esérine	Yohimbine	Papavérine	Ethyl- morphine	Diamorphine	Ephédrine
benzène	575	615	:	550	560	555	570
chlorobenzène	605	560	:	565	560	550	570
chloroforme	610	560	:	560	560	560	570
ether éthylique	+	+	:	+	+	+	620
tétrahydrofuranne	610	565	560	560	555	550	560
ioxanne	:	:	:	:	:	:	555
méthylal	610	565	620	565	560	565	560
acétate d'éthyle	600	560	555	555	555	560	560
acétone	610	610	610	610	610	610	605
solvant de Gyenes	610	610	610	610	608	610	608
méthanol	595	595	595	595	595	595	595
ethanol	600	600	600	600	600	600	600

+: précipitation du composé foncé, ne permettant pas la mesure de la longueur d'onde d'absorption maxima.

Figure 19



Composé foncé entre BBP et Atropine dans :

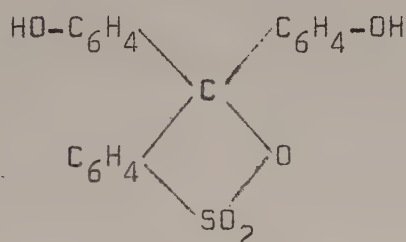
	1	2	3	4
Ethanol	0,5 vol	20 vol	80 vol	Ethanol pur
+ Chloroforme	99,5 vol	80 vol	20 vol	

La longueur d'onde du composé foncé est déplacée vers l'infra-rouge dans les solvants dissociants. Elle varie entre 605 et 610 $m\mu$ dans l'acétone. Elle est indépendante de la nature de l'alcaloïde dans le méthanol (595 $m\mu$) et l'éthanol (600 $m\mu$).

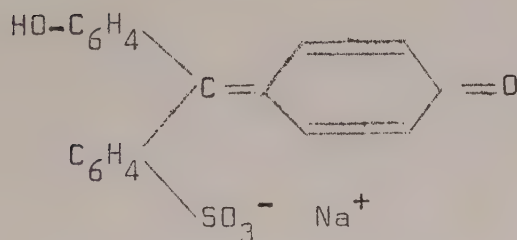
La figure 19 représente les variations du spectre du composé foncé atropine-B.B.P. dans du chloroforme contenant des proportions croissantes d'éthanol.

C - ESSAI D'INTERPRETATION

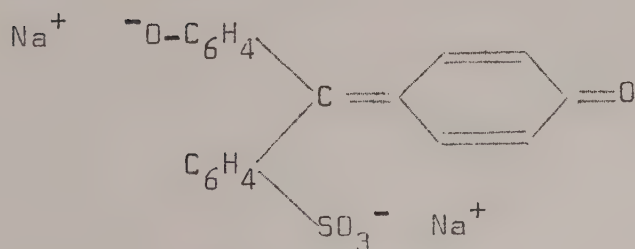
Au début du siècle, S.F. ACREE (1, 28, 51, 52) proposait une représentation des phénolsulfonephtaléines et de leurs sels colorés :



Acide incolore



Sel monobasique jaune



Sel dibasique foncé

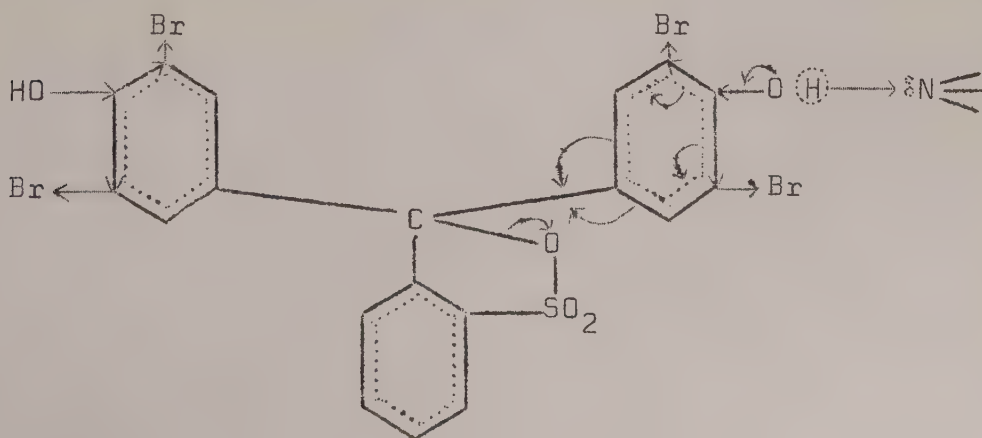
Cette hypothèse, discutée par Mme RAMART-LUCAS (31, 32, 33), au temps où les théories de BRØNSTED et de LEWIS sur les acides et les bases ne s'étaient pas encore affirmées, devait être reprise il y a dix ans par DAVIS et coll. (8, 9). Les théories modernes relatives aux mécanismes électroniques en chimie organique la confirment aujourd'hui.

Nous étudierons successivement les réactions qui entrent en jeu quand on ajoute une base à une solution d'une phénol-sulfonophthaléine sous sa forme incolore. La base peut être un alcaloïde, un solvant tel que l'eau ou l'acétone, ou toute substance dont la molécule contient un doublet électronique mobile.

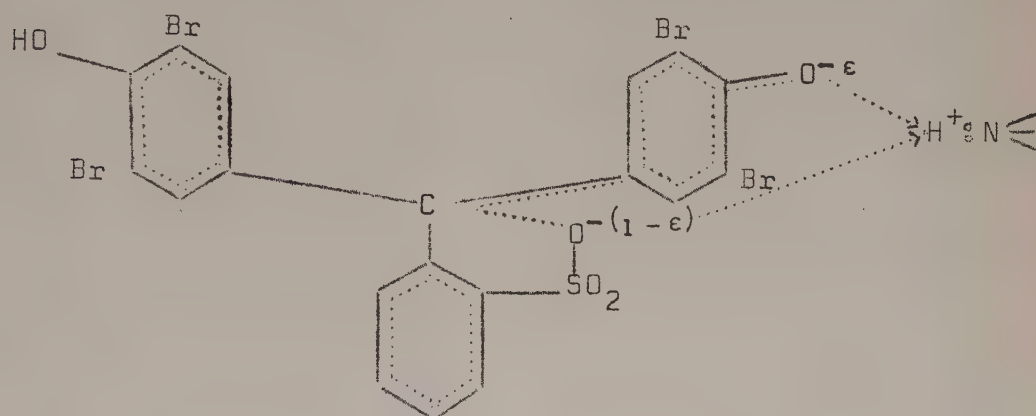
On peut tenter d'expliquer la formation des différents composés colorés de la manière suivante :

a) Formation du composé jaune

La réaction est basée sur un processus prototropique catalysé par une base : le proton des fonctions phénoliques du colorant est activé, d'une part par un effet inductif lorsque le cycle benzénique porte des substituants électrophiles, d'autre part et surtout par un effet mésomère où interviennent le cycle benzénique et le cycle sultone. L'un de ces protons est arraché par la base ; il y a alors délocalisation des électrons π dans la molécule, comme il est représenté ci-dessous pour le bleu de bromophénol :

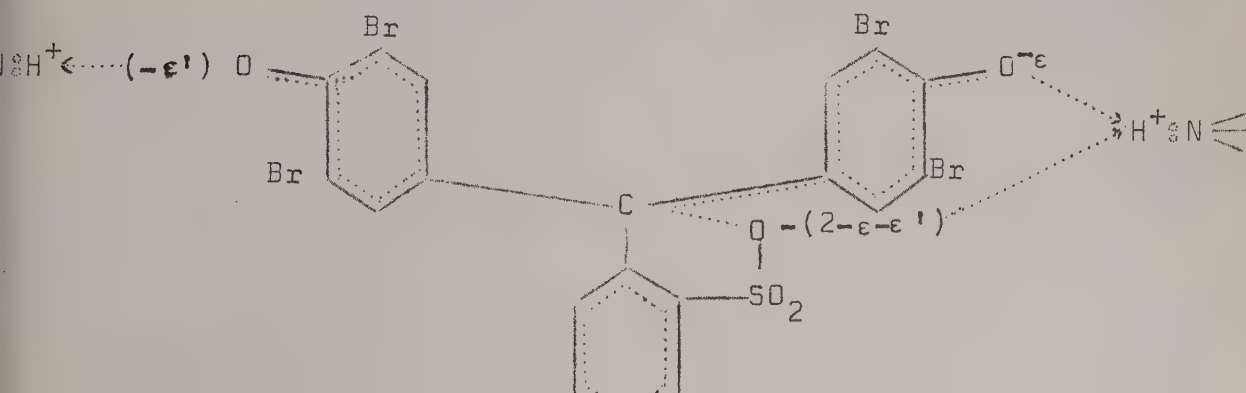


La forme limite de cette délocalisation est une quinone ; le cycle sultone tend à s'ouvrir, faisant apparaître un radical SO_3^- ; il y a attirance réciproque entre ce groupement sulfonate et le proton fixé sur la molécule de base. Il apparaît ainsi une possibilité de conjugaison dont la grande énergie explique l'apparition d'une bande d'absorption dans le visible (coloration jaune).



b) Formation du composé foncé

La mobilité du proton de la seconde fonction phénolique dépend alors surtout de l'effet inductif exercé par les substituants du noyau benzénique. En présence d'une base forte ce proton est arraché à son tour ; il apparaît une nouvelle conjugaison, qui augmente l'énergie de résonance de la molécule :



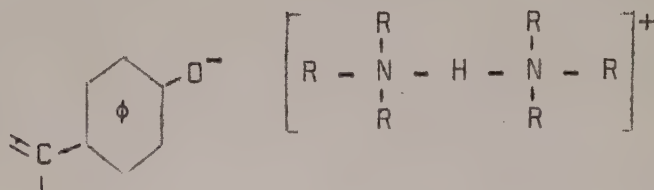
Par un effet bathochrome, la couleur du composé passe du jaune au rouge ou au violet (composé foncé).

La molécule de base fixée sur le proton phénolique peut exercer sur le degré de délocalisation des électrons π du colorant une certaine influence qui se traduit par les différences des longueurs d'onde d'absorption maximum observées, dans le cas qui nous intéresse, lorsque l'on passe d'un alcaloïde à un autre.

c) Modifications du spectre d'absorption en milieu concentré en alcaloïde

Lorsque l'alcaloïde se trouve en grand excès par rapport au colorant, il peut s'associer par des liaisons hydrogène aux composés formés.

DAVIS (9) donne plusieurs exemples d'agrégats d'ions concernant une tétrabromophénolphtaléine, le Magenta E ; nous n'en retiendrons qu'un :



Il est probable qu'avec les phénolsulfonephtaléines le premier agrégat de cette nature apparaisse au niveau du groupement sulfonate.

L'apparition de ces agrégats expliquerait les déplacements, peu importants, des longueurs d'ondes d'absorption

maxima. Ils commencent à se former pour un rapport moléculaire limite alcaloïde/colorant d'autant plus bas que le solvant est moins dissociant (chloroforme, benzène), que la concentration en alcaloïde est plus élevée et que son pK par rapport à la fonction acide du colorant envisagée est plus grand .

En résumé, deux réactions présentent un intérêt pratique :

- la première, au cours de laquelle une molécule d'alcaloïde s'unit à une molécule de colorant, donne naissance à un sulfonate, de couleur jaune, dont la longueur d'onde d'absorption maximum est indépendante de la nature de l'alcaloïde, mais varie avec le colorant et le solvant employés ;

- la seconde réaction est l'union d'une nouvelle molécule d'alcaloïde à la fonction phénol libre du composé jaune ; il se forme un composé foncé, dont la longueur d'onde d'absorption maximum varie non seulement avec la nature du colorant et du solvant, mais aussi avec celle de l'alcaloïde.

D'autres réactions donnant naissance à des agrégats moléculaires, peuvent avoir lieu lorsque l'alcaloïde est en grand excès par rapport au colorant ; dans la mesure du possible, nous éviterons ces réactions au cours de notre étude expérimentale.

C H A P I T R E I I I

ETUDE QUANTITATIVE DES REACTIONS EN MILIEU PEU DISSOCIANT PRINCIPE DE LA METHODE

Nous nous sommes inspirés de la méthode des variations continues de JOB : nous avons fait varier les concentrations molaires de colorant et d'alcaloïde dans le solvant de manière que leur somme reste constante, et nous avons mesuré spectrophotométriquement les variations de densité optique des composés formés. Nous avons construit les courbes représentatives de ces variations, en portant en abscisses la concentration molaire en colorant total (libre et combiné) et en ordonnées les densités optiques.

Nous nous proposons dans ce chapitre de construire ces courbes mathématiquement en envisageant sur un plan théorique les différents cas possibles ; nous présenterons dans le chapitre suivant les courbes expérimentales obtenues dans des conditions variées, et nous tenterons de les interpréter.

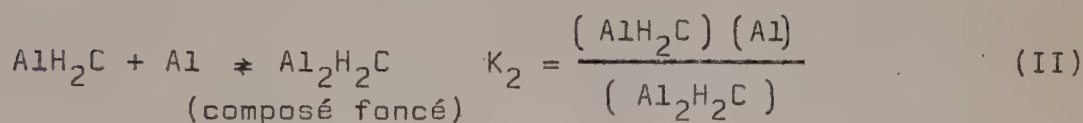
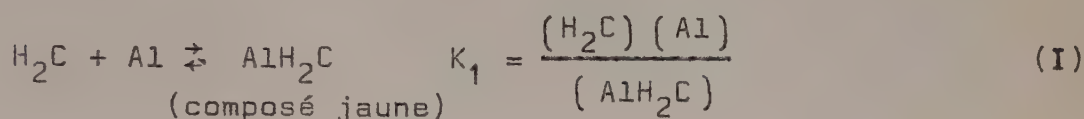
Au cours de notre étude, nous désignerons par H_2C ou par C le colorant diacide, par Al l'alcaloïde, par AlH_2C ou AlC le composé formé par union d'une molécule d'alcaloïde à une molécule de colorant, par Al_2H_2C ou Al_2C le composé formé entre deux molécules d'alcaloïde et une molécule de colorant.

Nous distinguerons parmi les solvants peu dissociants les solvants inertes d'une part, les solvants actifs d'autre part, tels que nous les avons définis dans la chapitre I.

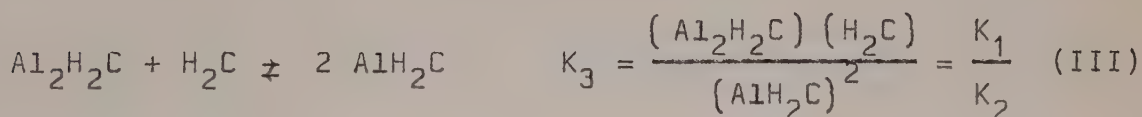
- ETUDE DES REACTIONS DANS UN SOLVANT INERTE

a) Les réactions

Il peut se former deux composés colorés (*), le jaune ($\lambda_{\max}$: 415 m μ environ) et le foncé ($\lambda_{\max}$: 550 à 610 m μ), suivant les réactions :



pK_2 est la distance entre alcaloïde et fonction acide faible du colorant sur l'échelle unique ; il représente un cas particulier de pK_{ind} entre substance à doser et indicateur de type II.



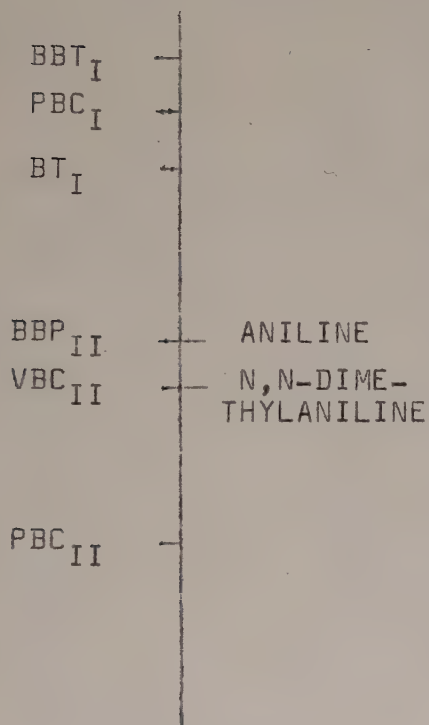
$$pK_3 = pK_1 - pK_2 = \Delta pK$$

ΔpK est la distance entre les deux fonctions acides du colorant sur l'échelle unique ; il représente un cas particulier du ΔpK entre réactif titrant et indicateur de type II.

(*) Nous limitons cette étude générale au cas où le spectre d'absorption de la solution ne présente pas de bande sur-numéraire due aux agrégats moléculaires, c'est-à-dire où le rapport (alcaloïde/colorant) est inférieur au rapport-limite défini précédemment.

Pour étudier ces trois équilibres, il est nécessaire de connaître pK_1 et pK_2 , soit en d'autres termes les positions relatives des deux fonctions acides du colorant et

de la fonction basique de l'alcaloïde sur une échelle unique. Nous avons groupé sur la figure 20 les résultats antérieurement publiés dans la littérature (4 ; 2, 26, 34, 44). Cette échelle est très incomplète, puisqu'elle ne comporte ni la fonction acide fort de plusieurs colorants, ni la fonction basique des alcaloïdes.



Nous avons supposé "a priori" au cours de nos calculs que pK_1 et ΔpK étaient assez grands pour qu'on puisse en pratique considérer les réactions (I) et (III) comme quantitatives, et les écrire :



FIGURE 20

Les résultats expérimentaux, que nous exposerons plus loin, ont montré que cette supposition était valable pour certains colorants et un très grand nombre d'alcaloïdes à des concentrations de l'ordre de 10^{-2} à $10^{-4}M$ en milieu peu dissociant.

La réaction (II) est une réaction d'équilibre, dont le pK_2 est faible en général. Le composé foncé ne se forme que si $pK_2 > 0$.

La valeur de pK_2 en milieu peu dissociant entre la fonction acide faible des colorants étudiés et les principaux alcaloïdes n'a pas été déterminée à notre connaissance ; par contre on connaît leurs pK_A en milieu aqueux (23, 24) ; les tableaux XV et XVI indiquent la valeur de ces pK_A .

Il est possible à l'aide de ces tableaux de prévoir en théorie quels alcaloïdes doivent s'unir à la fonction acide faible d'un colorant donné, en milieu peu dissociant, pour former le composé foncé ; étudions par exemple le cas du B.B.P. : la seconde fonction acide de ce colorant se trouve sur l'échelle unique en milieu peu dissociant au même niveau que la fonction basique de l'aniline. Tous les alcaloïdes plus basiques que l'aniline doivent donc donner le composé foncé, puisque pour eux $pK_2 > 0$; or l'ordre des basicités croissantes pour les couples acide-base d'un même type (ici B/HB^+) se conserve en principe d'un solvant à un autre, quel que soient son pouvoir dissociant ; les alcaloïdes susceptibles de donner le composé foncé avec le bleu de bromophénol doivent donc être approximativement ceux dont le $pK_{A\ H_2O}$ est plus grand que celui de l'aniline.

$$pK_{A\ H_2O} > 4,6$$

C'est le cas pour la plupart des alcaloïdes. On ne peut cependant obtenir dans un solvant inerte la forme Al_2H_2C pour les alcaloïdes du groupe de la purine, pour la colchicine, pour la seconde fonction basique de la strychnine, de la brucine, de l'ésérine et des alcaloïdes des quinquinas dont le $pK_{A\ H_2O}$ est inférieur à 4,6.

T A B L E A U XV

pK_A dans l'eau de la fonction acide faible des colorants dérivés de la phénolsulfonephthaléine (23)

:		:
:	Bleu de bromophénol	4,2
:	Vert de bromocrésol	4,9
:	Rouge de chlorophénol	6,0
:	Pourpre de bromocrésol	6,4
:	Bleu de bromothymol	7,3
:	Rouge de phénol	8,1
:	Rouge de crésol	8,4
:	Bleu de thymol	9,2
:		:

T A B L E A U XVI

pK_A dans l'eau des principaux alcaloïdes (24)

$$(pK_A = pK_i - pK_B = 14 - pK_B)$$

:		:
:	Cytisine (II)	1,00
:	Pilocarpine (II)	1,43
:	Colchicine	1,65
:	Esérine (II)	1,76
:	Pipérine	1,78
:	Benzoylécgonine	2,23
:	Procaïne (II)	2,25
:	Brucine (II)	2,30
:	Strychnine (II)	2,30
:	Ecgonine	2,78
:	Narcéine	3,30
:	Cinchonidine (II)	3,97
:	Quinidine (II)	4,00
:	Quinine (II)	4,30
:		:

: Quinoléine	4,50	:
: <u>Aniline</u>	4,60	:
: Spartéine (II)	4,60	:
: Isoquinoléine	5,04	:
: <u>N.N.diméthylaniline</u>	5,10	:
: Pyridine	5,10	:
: Pipérazine (II)	5,66	:
: Papavérine	5,93	:
: Narcotine	6,17	:
: Hydrastine	6,23	:
: Isopilocarpine (I)	6,83	:
: Pilocarpine (I)	6,85	:
: Apomorphine	7,00	:
: Arécoline	7,16	:
: Solanine	7,34	:
: Emétine (II)	7,36	:
: Cupréine	7,43	:
: Nicotine	7,84	:
: Morphine	7,87	:
: Ethylmorphine	7,88	:
: Esérine (I)	7,88	:
: Cytisine (I)	7,92	:
: Codéine	7,95	:
: Thébaïne	7,95	:
: Brucine (I)	7,96	:
: Strychnine (I)	8,00	:
: Quinine (I)	8,03	:
: Aconitine	8,12	:

:	Cinchonine (I)	8,15	:
:	Cinchonidine (I)	8,20	:
:	Emétine (I)	8,23	:
:	Cocaïne	8,41	:
:	Quinidine	8,57	:
:	Hydroquinine	8,67	:
:	Procaïne (I)	8,85	:
:	Cévadine	8,85	:
:	Ephédrine	9,50	:
:	Atropine	9,65	:
:	Tropacocaïne	9,68	:
:	Pipérazine	9,95	:
:	Pseudatropine	10,20	:
:	Coniine	10,90	:
:	Pipéridine	11,20	:
:	Hydrastinine	11,38	:
:	Berbérine	11,53	:
:	Spartéine (I)	11,76	:

La limite de $pK_{A\ H_2O}$ de l'alcaloïde à partir de laquelle on obtient le composé foncé passe à 5 environ, $pK_{A\ H_2O}$ de la N.N.diméthylaniline, pour le vert de bromocrésol ? elle devient beaucoup plus élevée (≈ 8) pour le pourpre de bromocrésol, le rouge de phénol, le bleu de thymol, avec lesquels les alcaloïdes très fortement basiques pourront seuls donner le composé foncé.

Cependant ces prévisions ne sont qu'approximatives ; en effet les échelles générales d'acidité-basicité représentent une moyenne parfois arbitraire entre les échelles expérimentales dans différents solvants, qui ne se superposent pas toujours comme la théorie le laisserait supposer.

D'autre part, dans un solvant inerte, colorant et alcaloïde se trouvent attachés sous forme de paire d'ions, alors que dans l'eau ils se sont séparés sous forme d'ions solvatés. L'influence des facteurs stériques sur l'énergie de liaison est par suite beaucoup plus importante dans le premier cas que dans le second.

En résumé, nous écrirons les réactions (I), (II) et (III) :



et nous désignerons simplement K_2 par K , puisque c'est la seule constante d'équilibre qui intervienne en pratique dans les réactions :

$$K = \frac{(AlC) (Al)}{(Al_2C)} \quad (29)$$

b) Etude théorique des courbes

D'après le mode opératoire suivi (méthode des variations continues), désignons par :

- x la concentration molaire en colorant ;
- n la somme constante des concentrations molaires en alcaloïde et en colorant ; la concentration molaire en alcaloïde est donc égale à $n - x$.

Trois cas peuvent se présenter :

- l'alcaloïde est en excès sur le colorant ($x < n/2$) ;
- la concentration en alcaloïde est égale à celle en colorant ($x = n/2$) ;
- le colorant est en excès par rapport à l'alcaloïde ($x > n/2$).

Nous nous proposons d'étudier mathématiquement dans ces trois cas les variations, en fonction de x , des densités optiques D_{AlC} et D_{Al_2C} correspondant à chacun des composés colorés ; les courbes théoriques représentatives de ces variations nous serviront de base pour l'interprétation des courbes expérimentales.

1 - Etude de D_{AlC} et D_{Al_2C} quand $x < n/2$

L'alcaloïde est alors en excès par rapport au colorant ; il se forme du composé jaune AlC et du composé foncé Al_2C . Nous étudierons successivement les variations de $\{AlC\}$ et de $\{Al_2C\}$, puis des densités optiques correspondantes, en fonction de x .

α - Variations de $\{AlC\}$ et de $\{Al_2C\}$ en fonction de x

Dans la solution, les molécules de colorant se répartissent entre les composés AlC et Al_2C .

$$x = \{AlC\} + \{Al_2C\} \quad (30)$$

Il ne peut rester de colorant libre en présence de Al_2C en raison de la réaction (III).

Parmi les molécules d'alcaloïde, certaines restent libres, les autres se répartissent entre AlC et Al_2C ; consi-

dérant que deux molécules d'alcaloïdes sont mobilisées pour la formation d'une molécule d' Al_2C , nous pouvons écrire :

$$n - x = (Al) + (AlC) + 2 (Al_2C) \quad (31)$$

Nous obtenons ainsi un système de trois équations : (29), (30) et (31), à quatre inconnues : x , (Al) , (AlC) et (Al_2C) , qui permettent d'établir les relations mathématiques représentant les variations de (AlC) et (Al_2C) en fonction de x :

$$(AlC) = f_1 (x)$$

$$(Al_2C) = f_2 (x)$$

$$\text{Etude de } (AlC) = f_1 (x)$$

La relation (30) peut s'écrire :

$$(Al_2C) = x - (AlC) \quad (32)$$

Introduisons cette valeur de (Al_2C) dans la relation (31)

$$n - x = (Al) + (AlC) + 2x - 2 (AlC)$$

$$(Al) = n - 3x + (AlC) \quad (33)$$

Remplaçons dans la relation (29) (Al) et (AlC) par leurs valeurs données par (32) et (33) respectivement :

$$K = \frac{(AlC) (n - 3x + (AlC))}{x - (AlC)} \quad (34)$$

$x - (A1C) \neq 0$ quand $(A1_2C) \neq 0$ d'après la relation (30).
 Dans ce cas la relation (34) peut être présentée sous la
 forme :

$$K (x - (A1C)) = (A1C) (n - 3x + (A1C))$$

dont la résolution mène à :

$$(A1C)^2 + (A1C) (x - 3x + K) - Kx = 0 \quad (35)$$

Pour construire la courbe représentative de cette fonction implicite, nous en étudierons tout d'abord la dérivée :

$$2 (A1C) (A1C)' - 3 (A1C) - 3x (A1C)' + (n - K) (A1C)' - K = 0$$

$$(A1C)' (2 (A1C) - 3x + n + K) = 3 (A1C) + K$$

Etudions pour quelles valeurs
 de x on a :

$$2 (A1C) - 3x + n + K \neq 0 \quad (36)$$

D'après les relations (30) et
 (31) :

$$n - 3x = (A1) + (A1C)$$

L'inégalité (36) devient alors :

$$3 (A1C) + (A1) + K \neq 0$$

ce qui est réalisé quelle que soit la
 valeur de x .

On peut donc écrire :

$$(A1C)' = \frac{3 (A1C) + K}{2 (A1C) - 3x + n + K} \quad (37)$$

Cette dérivée est toujours positive et ne s'annule pour aucune valeur de x : la courbe représentative de $(A1C)$ est toujours ascendante.

$$\text{Si } x = 0, \quad (A1C)' = \frac{K}{n + K} = \frac{1}{\frac{n}{K} + 1} \quad (38)$$

La courbe est donc d'autant plus inclinée au départ du point origine que n , concentration initiale en alcaloïde, est plus grand et que K est plus petit.

Afin de construire la courbe point par point, calculons $(A1C)$ pour une valeur donnée de x ; pour ceci il faut rechercher les racines de l'équation (35) :

$$(A1C)^2 + (A1C) (n - 3x + K) - Kx = 0$$

Elle admet des racines si :

$$(n - 3x + K)^2 + 4 Kx > 0$$

ce qui est toujours réalisé.

$$(A1C) = \frac{-(n - 3x + K) + \sqrt{(n - 3x + K)^2 + 4 Kx}}{2}$$

De ces deux racines, une seule est positive, donc en accord avec l'expérience :

$$(A_1C) = \frac{3x - n - K + \sqrt{(n - 3x + K)^2 + 4 Kx}}{2} \quad (39)$$

Etude de $(A_1C) = f_2(x)$

La relation (30) peut s'écrire :

$$(A_1C) = x - (A_1C) \quad (40)$$

Il est donc aisé de construire géométriquement la courbe A_1C à partir de la courbe (A_1C) .

Si l'on introduit dans la relation (31) la valeur de (A_1C) donnée par (40) on obtient :

$$\begin{aligned} n - x &= (A_1) + x - (A_1C) + 2(A_1C) \\ (A_1) &= n - 2x - (A_1C) \end{aligned} \quad (41)$$

Remplaçons dans la relation (29) (A_1C) et (A_1) par leurs valeurs données par (40) et (41) respectivement :

$$K = \frac{(x - (A_1C)) (n - 2x - (A_1C))}{(A_1C)} \quad (42)$$

$A_1C \neq 0$, on peut donc écrire :

$$K (A_1C) = (x - (A_1C)) (n - 2x - (A_1C))$$

dont la résolution mène à :

$$(Al_2C)^2 + (Al_2C) \cdot (x - n - K) - 2x^2 + nx = 0 \quad (43)$$

Etudions la dérivée de cette fonction implicite :

$$(Al_2C) (Al_2C)' + (Al_2C) + x (Al_2C)' - (n + K) (Al_2C)' - 4x + n = 0$$

$$(Al_2C)' (2 (Al_2C) + x - n - K) = 4x - n (Al_2C)$$

Calculons pour quelles valeurs de x on a :

$$2 (Al_2C) + x - n - K \neq 0 \quad (44)$$

La limite supérieure de (Al_2C) est $n/3$, valeur pour laquelle C serait associé à Al en totalité sous forme de (Al_2C) :

$$(Al_2C) \leq \frac{n}{3} \quad (45)$$

- Si $(Al_2C) = n/3$, $x = n/3$;
l'inégalité (43) s'écrit :

$$K \neq 0$$

- Si $(Al_2C) < n/3$, on calcule aisément que l'inégalité (43) est réalisée, quelle que soit la valeur de

K, lorsque :

$$x < \frac{n}{3} \quad (46)$$

Dans ce cas on peut écrire :

$$(A_{12}C)' = \frac{4x - n - (A_{12}C)}{2(A_{12}C) + x - n - K} \quad (47)$$

$$(A_{12}C)' = 0 \text{ quand } 4x - n - (A_{12}C) = 0$$

$$\text{soit } x = \frac{n + (A_{12}C)}{4}$$

Cette valeur de x correspond donc à un maximum ou à un minimum de la courbe.

Dans la formule de la dérivée (47), le dénominateur est négatif quand $x < n/3$.

Si $x < \frac{n + (A_{12}C)}{4}$, le numérateur est aussi négatif, la dérivée est positive : la courbe est ascendante.

Si $x > \frac{n + (A_{12}C)}{4}$, la dérivée est négative et la courbe est descendante.

La courbe admet donc un maximum pour $x = \frac{n + (A_{12}C)}{4}$.
En désignant par $(A_{12}C)_{\max}$ la valeur correspondante de $(A_{12}C)$ on peut écrire :

$$(A_{12}C)_{\max} = 4x - n \quad (48)$$

La courbe représentative de cette fonction est une droite (L) dont on peut définir les limites :

- si $(Al_2C)_{\max} = 0$, $x = n/4$ (limite inférieure de (L) ;
- si $(Al_2C)_{\max} = n/3$, $x = n/3$ (limite supérieure de (L)).

Le lieu des maximum de la courbe pour une même valeur de n et des valeurs différentes de K est donc une droite qui coupe l'axe des abscisses au point $x = n/4$ et dont la limite supérieure est le point d'abscisse $x = n/3$ et d'ordonnée $(Al_2C) = n/3$. Cette droite est indépendante de la nature de l'alcaloïde.

L'abscisse du maximum de la courbe est d'autant plus proche de $n/4$ que $(Al_2C)_{\max}$ est plus faible (concentration faible ou K élevé), d'autant plus proche de $n/3$ que $(Al_2C)_{\max}$ est plus fort (concentration élevée ou K faible).

$$\text{Si } x = 0, (Al_2C)' = \frac{n}{n + K} = \frac{1}{1 + \frac{K}{n}} \quad (49)$$

La courbe représentative de (Al_2C) est donc d'autant plus inclinée au point origine que n est plus faible et que K est plus grand.

Lorsque x est voisin de 0, les relations (38) et (49) permettent d'écrire :

$$\frac{(AlC)'}{(Al_2C)'} = \frac{K}{n}$$

$$K = n \frac{(AlC)}{(Al_2C)} \quad (50)$$

Cette relation devrait permettre en théorie de calculer K, par une simple mesure de deux densités optiques, après avoir ajouté une très petite quantité de colorant à une solution d'alcaloïde de concentration connue n ; en pratique la mesure de K est en général impossible dans ces conditions, favorables à la formation d'agrégats d'ions.

Sur un plan qualitatif, la coloration obtenue quand on ajoute une petite quantité de colorant à une solution d'alcaloïde est la composante des colorations respectives de (AlC) et (Al₂C) ; il se forme d'autant plus de composé foncé que K est plus faible et que la concentration en alcaloïde est plus élevée.

Il est facile de calculer (Al₂C) pour une valeur donnée de x à l'aide des relations (32) et (39) ; on trouve :

$$(Al_2C) = \frac{n - x + K - \sqrt{(n - 3x + K)^2 + 4 Kx}}{2} \quad (51)$$

- Variations de D_{AlC} et D_{Al₂C} en fonction de x

On peut aisément passer des concentrations molaires (AlC) et (Al₂C) aux densités optiques correspondantes, en supposant que ces composés obéissent à la loi de BEER :

$$D = \epsilon C$$

ϵ désignant le coefficient d'absorption molaire et C la concentration molaire en composé coloré.

On a alors :

$$D_{AlC} = \epsilon_{AlC} f_1(x) \quad (52)$$

$$D_{Al_2C} = \epsilon_{Al_2C} f_2(x) \quad (53)$$

Les deux bandes d'absorption sont en général assez distinctes pour qu'on puisse attribuer l'absorption vers 415 mμ à AlC, et celle à 560 - 610 mμ à Al₂C exclusivement ; il est donc permis de comparer les courbes expérimentales aux courbes théoriques représentatives des fonctions (52) et (53).

La relation (30) devient alors :

$$x = \frac{D_{AlC}}{\epsilon_{AlC}} + \frac{D_{Al_2C}}{\epsilon_{Al_2C}}$$

Elle permet de calculer ϵ_{Al_2C} si l'on connaît ϵ_{AlC} :

$$\epsilon_{Al_2C} = \frac{D_{Al_2C}}{x - \frac{D_{AlC}}{\epsilon_{AlC}}} \quad (54)$$

2 - Etude de D_{AlC} et D_{Al_2C} quand $x = n/2$

La concentration en colorant est égale à celle en alcaloïde ; la relation (39) devient :

$$(AlC) = \frac{n}{2}$$

L'alcaloïde et le colorant sont quantitativement combinés sous forme de {AlC} ; si (Al_t) est la concentration en alcaloïde total, on a :

$$D_{AlC} = \epsilon_{AlC} (Al_t) \quad (57)$$

Cette relation est indépendante de la nature de l'alcaloïde dans la mesure où celle-ci n'intervient pas sur la va-

leur d' ϵ_{AlC} ; elle permet le dosage colorimétrique de l'alcaloïde.

D'autre part la relation (51) devient :

$$(Al_2C) = 0$$

Il y a donc disparition de Al_2C au moment précis où la concentration molaire en colorant devient égale à celle en alcaloïde.

Il est donc possible en théorie de doser volumétriquement un alcaloïde par une solution titrée du colorant dans un solvant inerte ; le point de virage est marqué par la disparition du composé foncé.

3 - Etude de D_{AlC} pour $x > n/2$

Le colorant est en excès par rapport à l'alcaloïde ; celui-ci se trouve entièrement combiné sous forme de AlC ; l'excès de colorant, sous sa forme incolore, n'influe pas sur la densité optique à 415 m μ . La relation (57) est donc encore applicable ; on a :

$$D_{AlC} = \epsilon_{AlC} (Al_t) = \epsilon_{AlC} (n - x)$$

La courbe représentative de D_{AlC} est une droite descendante, de pente $-\epsilon_{AlC}$, coupant l'axe des abscisses au point $x = n$.

La relation (57) permet d'écrire :

$$\epsilon_{AlC} = \frac{D_{AlC}}{(Al_t)} \quad (58)$$

Nous avons construit sur la figure 21 les courbes représentatives de $(AlC) = f_1(x)$, $(Al_2C) = f_2(x)$,
 $D_{AlC} = \epsilon_{AlC} f_1(x)$, $D_{Al_2C} = \epsilon_{Al_2C} f_2(x)$, en prenant
 $K = 10^{-4}$, $\epsilon_{AlC} = 2,44 \cdot 10^4$, $\epsilon_{Al_2C} = 5 \cdot 10^4$, valeurs déterminées expérimentalement pour le couple atropine/bleu de bromophénol dans le chloroforme (chapitre V).

En conclusion, l'étude théorique des courbes des variations continues a permis de poser les principes :

- d'un dosage volumétrique des alcaloïdes ; le composé foncé Al_2C qui se forme lorsque la concentration en colorant est inférieure à celle en alcaloïde disparaît au moment précis où ces concentrations sont égales ($x = n/2$) ; il est donc possible de doser volumétriquement un alcaloïde par une solution titrée de colorant, dans un solvant inerte.

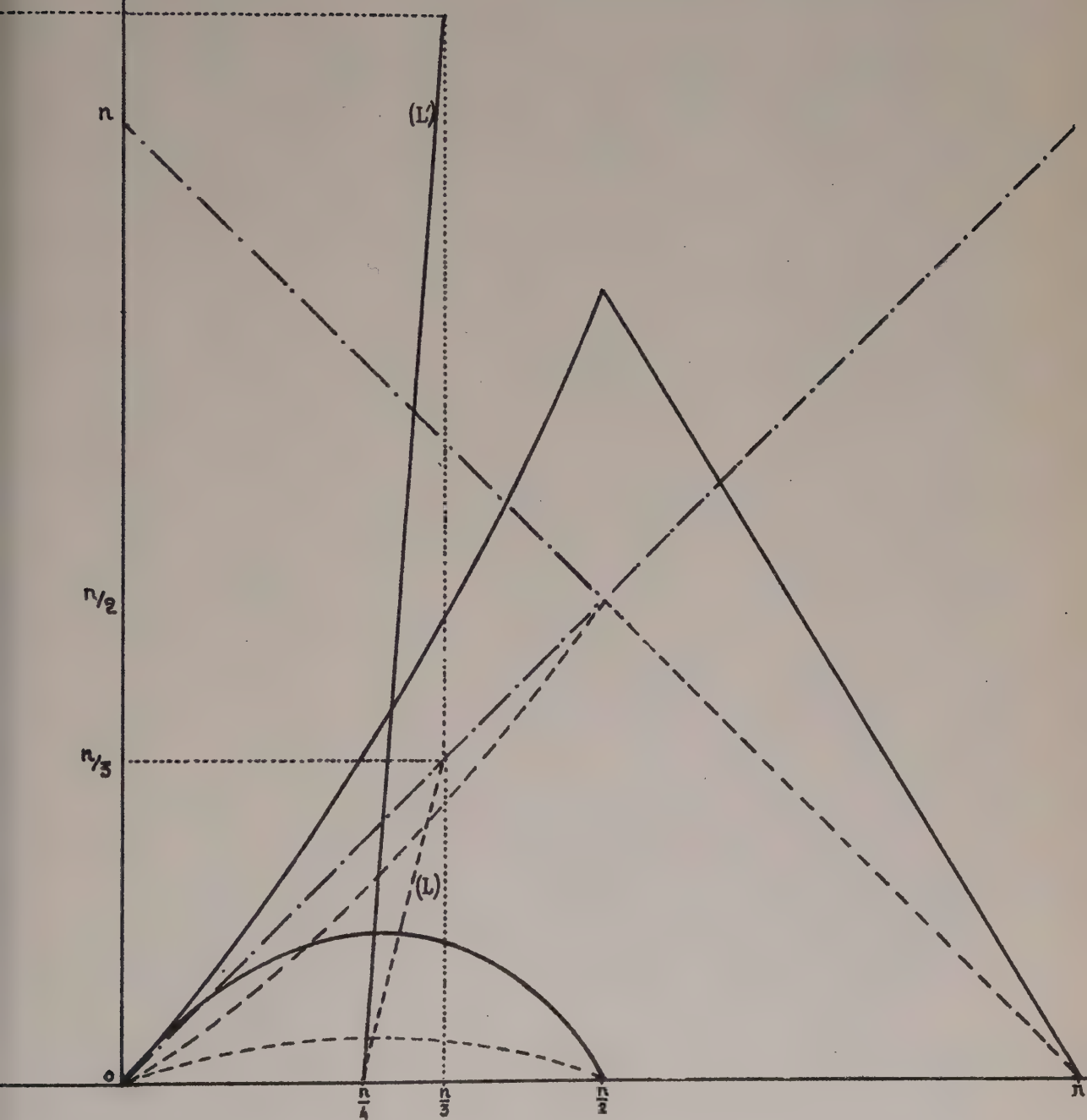
- d'un dosage colorimétrique des alcaloïdes ; lorsque la concentration en colorant est égale ou supérieure à celle en alcaloïde, celui-ci est quantitativement transformé en composé jaune AlC ; une simple mesure de densité optique permet alors de déterminer sa concentration, à l'aide de la relation (57).

- d'une mesure du pK entre alcaloïde et fonctions acides faibles des colorants dérivés de la P.S.P., d'après les relations (34), (42) ou (50) ; la relation (34) est la plus sûre en pratique.

- d'une mesure des coefficients d'absorption molaire des composés AlC et Al_2C , à l'aide des relations (54) et (58).

Concentrations
molaires : $f(x)$

Figure 21



——— Concentrations totales en Al et C
 - - - - - Variations de $[AlC]$ et $[Al_2C]$ en fonction de x
 ——— Variations de D_{AlC} et D_{Al_2C} en fonction de x

(L) : position des maxima de $[AlC]$ et D_{Al_2C}

c) Influence des impuretés sur les réactions dans un solvant inerte

Nous ne ferons qu'une étude théorique qualitative de cette influence, en montrant les modifications subies par les courbes des variations continues en présence de diverses impuretés, acides ou basiques.

Nous désignerons par :

- I_A une impureté acide, I_B une impureté basique ;
- (C) , (Al) , (I_A) , (I_B) , la concentration molaire en forme libre du colorant, de l'alcaloïde, de l'impureté, dans la solution ;
- (C_c) , (Al_c) , (I_{Ac}) , (I_{Bc}) , la concentration molaire en forme combinée de ces différents composés ;
- (C_t) , (Al_t) , (I_{At}) , (I_{Bt}) , la concentration molaire totale (libre + combinée).

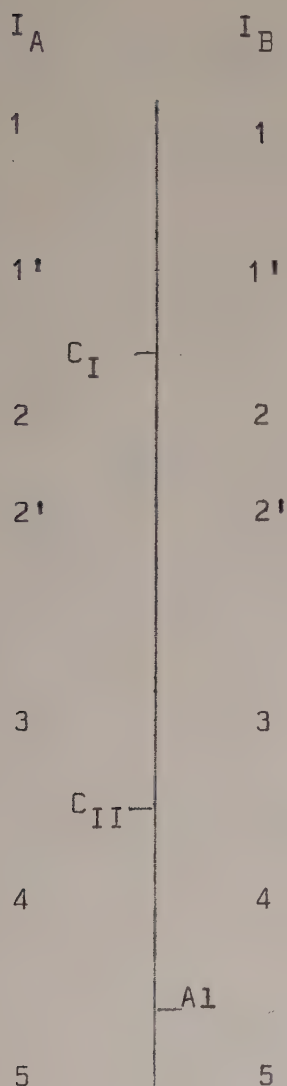
D'après le mode opératoire choisi (méthode des variations continues), $(C_t) = x$, et $(Al_t) = n - x$.

Nous supposons au cours de notre étude que la concentration en impureté est faible devant n .

Les modifications apportées par une impureté à la courbe des variations continues diffèrent suivant sa position sur l'échelle unique ; elles permettent de prévoir son influence sur les dosages.

Ainsi désignons par x_1 la valeur de x pour laquelle la courbe représentative de (Al_2C) coupe l'axe des abscisses en présence d'une impureté donnée ; la disparition de (Al_2C) correspondant au point de virage du dosage volumétrique, on peut prévoir en comparant x_1 à $n/2$ si l'impureté apportera une erreur à ce dosage, et quelle sera la nature de cette

Différentes positions
possibles de



erreur. L'erreur existe si $x_1 \neq n/2$; elle est par excès si $x_1 > n/2$; par défaut si $x_1 < n/2$.

Quand au dosage volumétrique, il n'est possible que lorsque la courbe montrant la variation de (AlC) en fonction de x pour $x > n/2$ se superpose à la droite descendante représentative de (Al_t) .

Nous étudierons successivement l'influence d'impuretés acides et d'impuretés basiques, en fonction de leur position sur l'échelle unique par rapport à l'alcaloïde et aux deux fonctions acides du colorant ; les différentes positions possibles sont schématisées sur la figure 22.

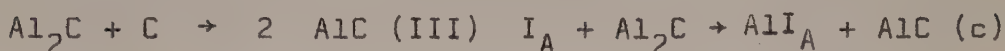
α - Influence des impuretés acides

Les impuretés acides (I_A) peuvent apporter au dosage d'un alcaloïde une erreur par défaut, en "neutralisant" une partie de l'alcaloïde.

FIGURE 22

1) L'impureté I_A est située au-dessus de C_I sur l'échelle unique (positions 1 ou 1')

Les réactions sont les suivantes :



La figure (23) représente les modifications apportées aux courbes des variations continues par une impureté de type 1 ou 1'.

Lorsque $x < x_1$, l'alcaloïde est en excès sur le colorant ; celui-ci se trouve entièrement combiné sous forme de AlC et Al_2C d'après les réactions (I) et (II) ; la relation (30) est applicable :

$$x = (AlC) + (Al_2C)$$

L'impureté est quantitativement combinée à l'alcaloïde sous forme de AlI_A , d'après la réaction (a) :

$$(I_{At}) = (AlI_A)$$

Il reste un excès d'alcaloïde libre dans la solution.

Lorsque $x \equiv x_1$, $(Al_2C) = 0$; la relation (30) devient :

$$x_1 = (AlC)$$

On a encore :

$$(I_{At}) = (AlI_A)$$

Tout l'alcaloïde est combiné sous forme de AlC et AlI_A (sinon il se formerait du Al_2C suivant la réaction II) :

$$(Al_t) = (AlC) + (AlI_A) = x_1 + (I_{At})$$

Donc $x_1 < (Al_t)$; le dosage volumétrique de l'alcaloïde est entaché d'une erreur par défaut.

D'autre part ;

$$(I_{At}) = (Al_t) - x_1 \quad (59)$$

Il est donc possible de doser volumétriquement les traces d'acide fort dans un solvant inerte ; on dissout dans ce solvant une base forte en quantité connue (Al_t) ; une partie de cette base se combine à l'impureté acide, l'autre reste libre ; on dose cet excès par la méthode volumétrique ; on obtient par différence en appliquant la relation (59) la concentration du solvant en impureté acide. Nous donnerons un exemple de ce dosage d'impureté dans le chapitre IV (chloroforme pur).

Lorsque $x > x_1$, deux cas peuvent se présenter :

- si l'impureté est très acide, (position 1), la réaction (b) est quantitative de gauche à droite ; la courbe représentative de (AlC) est alors une droite descendante, parallèle à la droite obtenue en l'absence d'impureté ;

- si l'impureté est légèrement plus acide que C_I (position 1') la réaction (b) est une réaction d'équilibre ; C en excès arrache Al à une partie de AlI_A pour donner AlC , et la courbe s'infléchit vers la droite. Elle peut aller se confondre avec la droite (Al_t) si la concentration en impureté acide est faible.

FIGURE 23

acide de type 1 ou 1'

- Concentrations totales en Al et C
- Variations de $[AlC]$ et $[Al_2C]$ fonction de x :
- en l'absence d'impureté
- en présence d'une impureté de type 1
- en présence d'une impureté de type 1' en concentration égale à la précédente.

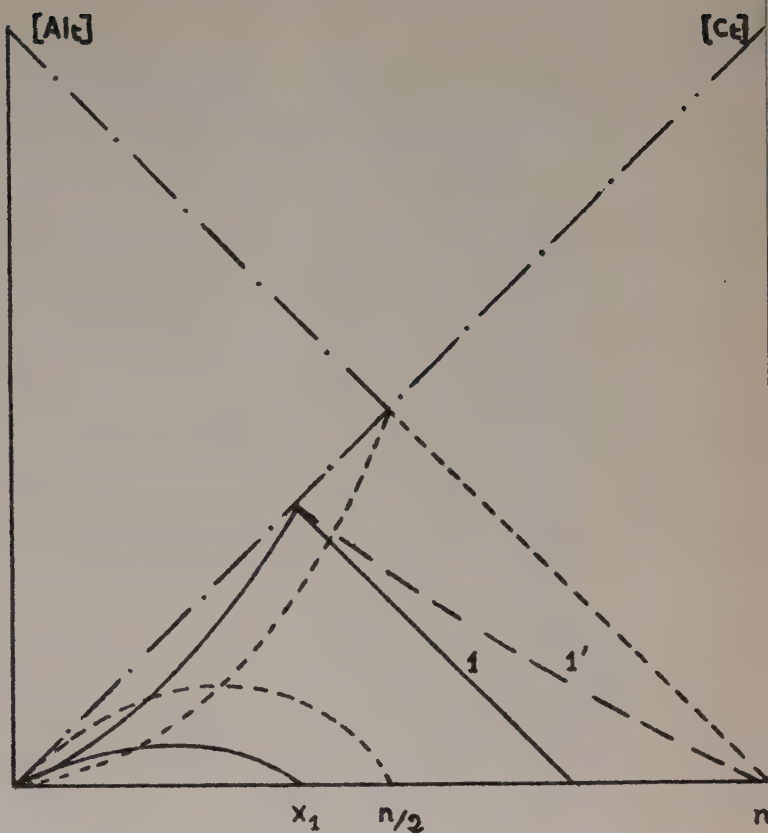
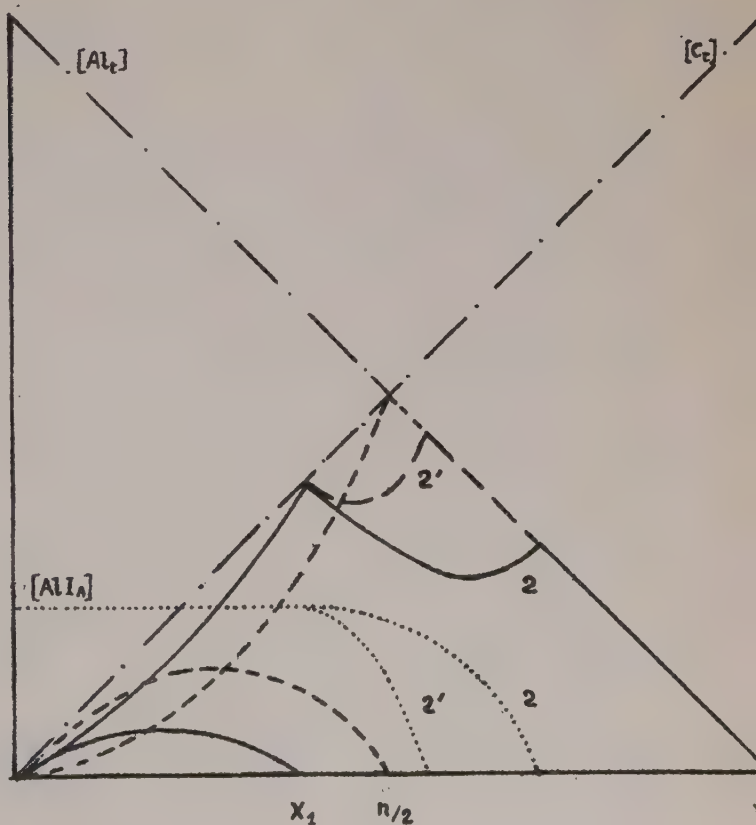


FIGURE 24

acide de type 2 ou 2'

- Variations de $[AlC]$ et $[Al_2C]$ fonction de x :
- en l'absence d'impureté
- en présence d'une impureté de type 2
- en présence d'une impureté de type 2' en concentration égale à la précédente

— Variations de $[AlI_A]$ en fonction de x .



Ni le dosage volumétrique, ni le dosage colorimétrique de l'alcaloïde ne sont possibles en présence d'une impureté de type 1 ou 1', si l'on ignore sa concentration.

2) L'impureté I_A est située un peu au-dessous de C_I sur l'échelle unique (position 2 ou 2').

Les réactions sont les mêmes que précédemment, et l'on arrive à des conclusions identiques pour $x < x_1$. Lorsque $x > x_1$, le colorant en excès arrache l'alcaloïde uni à l'impureté acide, d'autant plus que I_A est situé plus bas sur l'échelle unique.

La figure 24 représente les modifications apportées aux courbes des variations continues par une impureté acide de type 2 ou 2' ; nous avons déduit les courbes (AlC) , des courbes (Al_t) et (AlI_A) , sachant que :

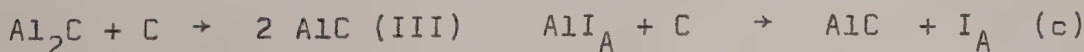
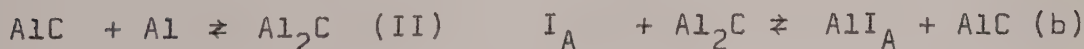
$$(AlC) = (Al_t) - (AlI_A)$$

En présence d'un excès suffisant de colorant, tout Al se trouve sous forme de AlC.

Le dosage colorimétrique de l'alcaloïde est donc possible en présence d'une impureté acide de type 2 ou 2', à condition d'employer un excès de colorant ; par contre le dosage volumétrique est encore impossible.

3) L'impureté I_A est située un peu au-dessus de C_{II} sur l'échelle unique (position 3).

Les réactions sont les suivantes :



Les modifications des courbes de variations continues en présence d'une impureté acide de type 3 sont représentées sur la figure 25.

Lorsque $x \leq x_1$, on peut encore écrire :

$$x = (AlC) + (Al_2C)$$

Par contre l'impureté n'est plus quantitativement combinée à l'alcaloïde, puisque la réaction (a) est une réaction d'équilibre :

$$(I_{At}) \neq (AlI_A)$$

Lorsque $x = x_1$, on a :

$$x_1 = (AlC)$$

Tout l'alcaloïde est combiné sous forme de AlC et AlI_A :

$$(Al_t) = (AlC) + (AlI_A)$$

Donc $x_1 < (Al_t)$; le dosage volumétrique de l'alcaloïde est encore impossible.

La relation (59) n'est plus valable, puisque

$$(I_{At}) \neq (AlI_A)$$

il n'est plus possible de doser l'impureté en retour.

Lorsque $x > x_1$, C arrache Al uni à I_A d'après la réaction (c).

La courbe (AlC) vient se confondre avec la droite (C_t) ; elle suit la droite (Al_t) pour $x > n/2$.

Le dosage colorimétrique est donc possible dès que la concentration en colorant est égale ou supérieure à celle en alcaloïde.

4) L'impureté est située entre C_{II} et Al sur l'échelle unique (position 4)

Les réactions sont les suivantes :



L'influence d'une impureté de type 4 est schématisée sur la figure 26.

Lorsque $x \leq x_1$, une partie de Al est combinée à AlI_A suivant la réaction (a) ; il se forme donc moins de Al_2C qu'en l'absence d'impureté acide.

Lorsque $x = x_1$, la solution ne contient plus de Al_2C , donc plus de AlI_A (réaction b) ; $(AlC) = (Al_t) = (C_t) = n/2$; le point de virage est donc le même qu'en l'absence d'impureté ; le dosage volumétrique est possible, mais perd en sensibilité.

Lorsque $x > x_1$, $(Al_t) = (AlC)$; le dosage colorimétrique est possible.

FIGURE 25.

acide de type 3

variations de $[AlC]$ et $[Al_2C]$
fonction de x :

- en l'absence d'impureté
- en présence d'une impureté de type 3

variations de $[AlI_A]$ en fonction de x .

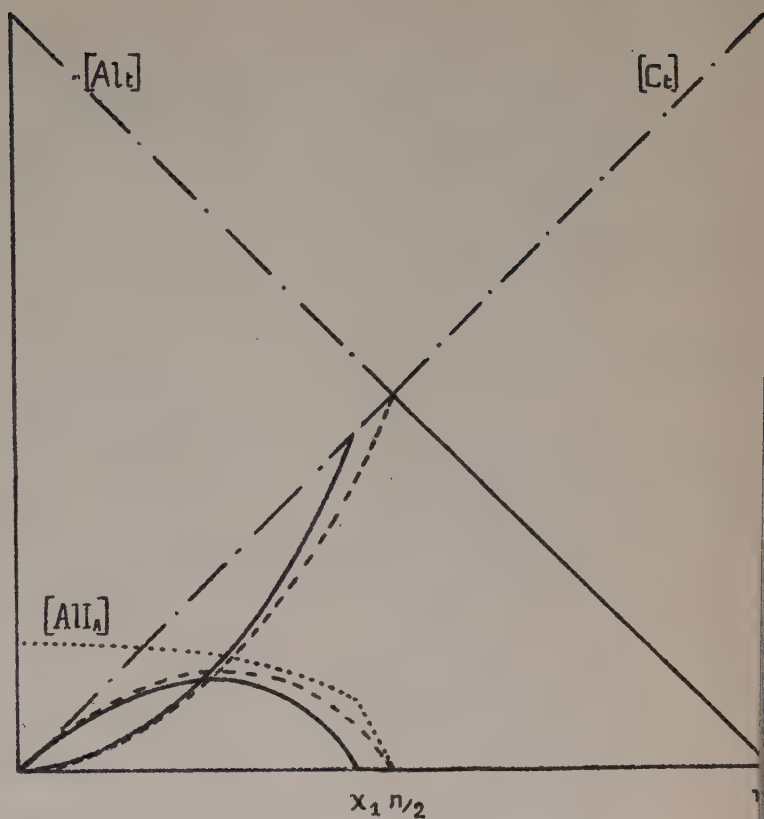
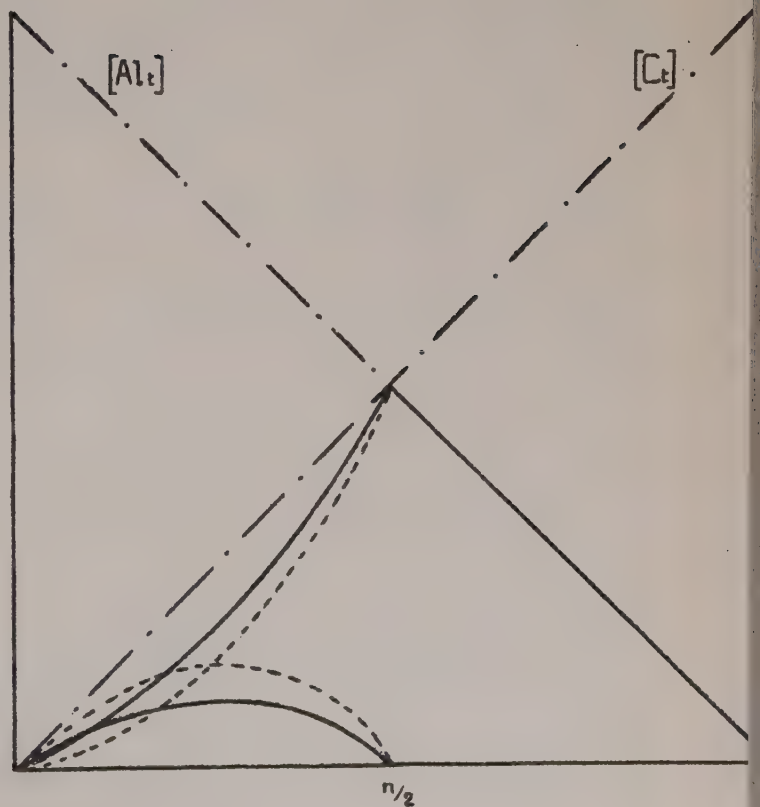


FIGURE 26

acide de type 4

variations de $[AlC]$ et $[Al_2C]$
fonction de x :

- en l'absence d'impureté
- en présence d'une impureté de type 4.



5) L'impureté I_A est située au-dessous de Al sur l'échelle unique (position 5)

I_A ne se combine plus à Al ; il n'influe pas sur les dosages

β - Influence des impuretés basiques

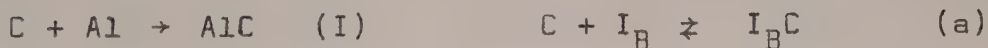
Les impuretés basiques (I_B) peuvent apporter au dosage d'un alcaloïde une erreur par excès. Les différentes positions possibles de ces impuretés sur l'échelle unique sont schématisées sur la figure (22).

1) L'impureté I_B est située au-dessus de C_I sur l'échelle unique (position 1)

L'impureté est alors trop faiblement basique pour s'associer au colorant ; elle n'influe pas sur les dosages.

2) L'impureté I_B est située un peu au-dessous de C_I sur l'échelle unique (position 2)

Les réactions sont les suivantes :



Les modifications des courbes sont représentées sur la figure 27.

Lorsque $x < n/2$, l'alcaloïde est en excès sur le colorant, qui se trouve totalement combiné sous forme de AlC ; la

solution ne contient pas de $I_B C$ en raison de la réaction (b).

Lorsque $x = n/2$, tout C se trouve à l'état de AlC ; l'impureté est encore sous forme libre I_B ; le dosage volumétrique de l'alcaloïde n'est donc pas perturbé.

Lorsque $x < n/2$, le colorant est en excès par rapport à l'alcaloïde ; il s'unit en partie à I_B sous forme de $I_B C$ jaune.

Si I_B est en position légèrement inférieure à C_I sur l'échelle unique (position 2), la courbe descendante, représentant la variation de l'ensemble des composés jaunes $(AlC) + (I_B C)$, n'est plus une droite et le dosage colorimétrique de l'alcaloïde n'est pas possible. Un cas particulier d'impuretés de type 2 est la fonction basique faible de certains alcaloïdes dibasiques, tels par exemple les alcaloïdes des quinquinas, qui ne peuvent être dosés par la méthode colorimétrique.

Si I_B est plus éloigné de C_I sur l'échelle (position 2') l'excès de colorant neutralise rapidement l'impureté basique ; la courbe représentative de $(AlC) + (I_B C)$ devient alors une droite descendante parallèle à la droite théorique ; on peut écrire dans ce cas :

$$(C_C) = (AlC) + (I_B C) = (Al_t) + (I_{Bt})$$

$$(I_{Bt}) = (C_C) - (Al_t)$$

soit, en supposant que AlC et $I_B C$ aient le même coefficient d'extinction molaire ϵ

$$(I_{Bt}) = \frac{D - \epsilon (Al_t)}{\epsilon}$$

FIGURE 27

basique de type 2 ou 2'

ations de $[AlC]$ et $[Al_2C]$
onction de x :

en l'absence d'impureté

en présence d'une impureté
de type 2

en présence d'une impureté
de type 2', en concentra-
tion égale à la précédente

ations de $[I_B C]$

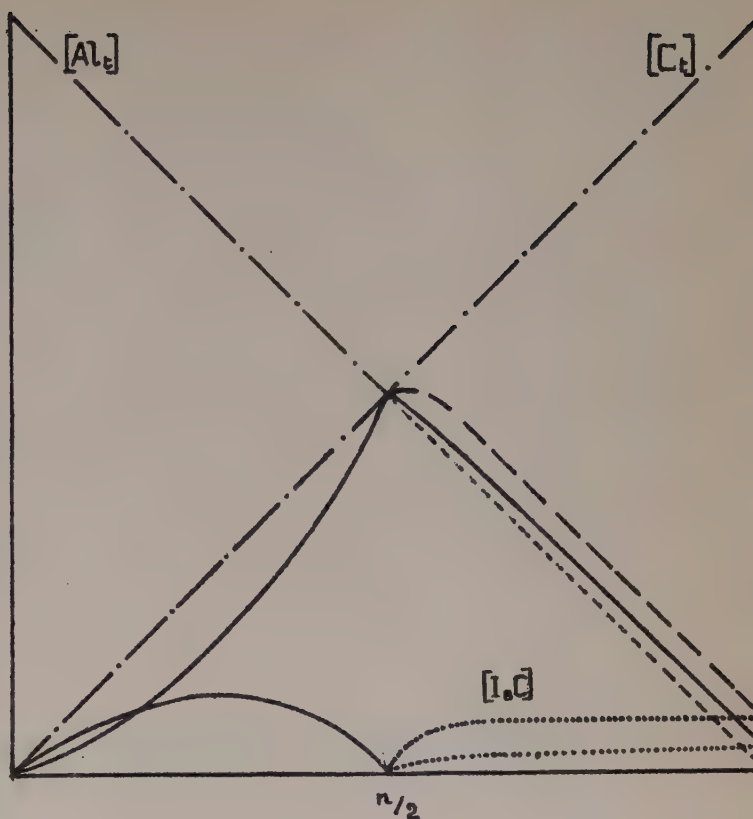


FIGURE 28

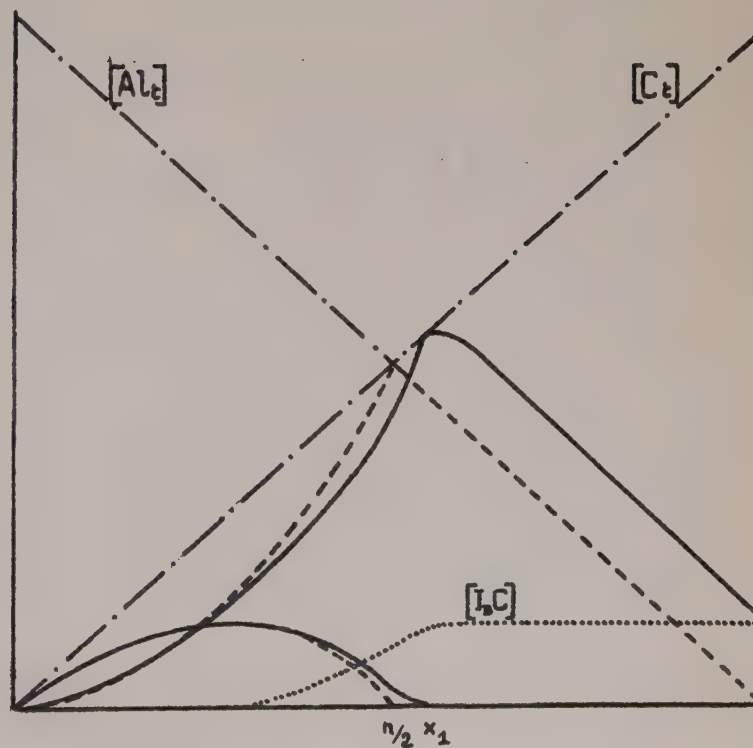
basique de type 3

ations de $[AlC]$ et $[Al_2C]$
onction de x :

en l'absence d'impureté

en présence d'une impureté
de type 3

ations de $[I_B C]$



En particulier, si $x = n$, on a :

$$(I_{Bt}) = \frac{D}{\epsilon}$$

On peut donc doser colorimétriquement un alcaloïde dans un solvant contenant une impureté de type 2' ; un dosage témoin permet de déterminer la concentration en impureté, et de la retrancher du résultat total pour déterminer (Al_t) :

$$(Al_t) = (C_c) - (I_{Bt}) \quad (60)$$

3) L'impureté I_B est située un peu au-dessus de C_{II} sur l'échelle unique (position 3)

Les réactions sont les suivantes :



La figure 28 représente les modifications apportées aux courbes par cette impureté.

La réaction (b) devenant une réaction d'équilibre, il peut exister du $I_B C$ en présence d'Al libre.

Lorsque $x = n/2$, $(C_t) = (Al_t)$; une partie de C se trouve combinée à I_B sous forme de $I_B C$. Il reste un peu de Al libre, donc du Al_2C d'après (2). x_1 est repoussé vers la droite et le dosage volumétrique est entaché d'une erreur par excès.

Lorsque $x = x_1$, $(C_t) = (AlC) + (I_B C)$

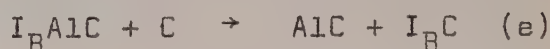
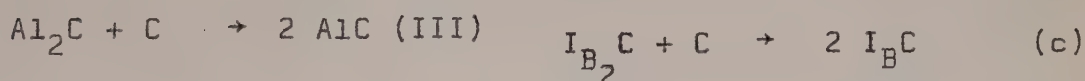
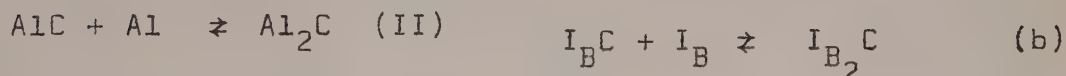
Lorsque $x \geq x_1$, les modifications de la courbe (C_c) sont de même ordre qu'en présence d'une impureté de type 2' ; on a encore :

$$(C_c) = (Al_t) + (I_{Bt})$$

le dosage colorimétrique de l'alcaloïde est possible en appliquant la relation (60), après avoir déterminé (I_{Bt}) sur un témoin.

4) L'impureté est située entre C_{II} et Al sur l'échelle unique (position 4)

Les réactions sont les suivantes :



L'impureté se comporte comme un alcaloïde, dont le pK serait un peu plus faible que celui de Al ; on dose donc, volumétriquement et colorimétriquement, la somme : alcaloïde - impureté basique ; si l'on détermine sur un témoin le taux d'alcaloïde dans le solvant, on peut obtenir par différence la concentration en alcaloïde.

5) L'impureté I_B est au-dessous de A_1 sur l'échelle unique (position 5)

L'influence de l'impureté est la même que précédemment ; seule différence : l'impureté est neutralisée avant l'alcaloïde au lieu de l'être après.

Cette étude générale de l'influence des impuretés sur les dosages est très schématique ; elle ne tient pas compte des concentrations en impuretés et en alcaloïdes, de sorte que la distinction entre réactions d'équilibre et réactions quantitatives est assez arbitraire. Elle permet cependant de prévoir si une impureté dont on connaît approximativement la place sur l'échelle unique et la concentration dans la solution influera ou non sur le dosage volumétrique ou colorimétrique d'un alcaloïde. D'autre part, les courbes des variations continues, effectuées expérimentalement à partir de solutions d'alcaloïde et de colorant de titres connus dans un solvant donné, permettent de tester la pureté de ce solvant, de détecter le cas échéant le type d'impureté qu'il contient et de déterminer s'il peut être utilisé ou non pour le dosage volumétrique ou colorimétrique. Nous en donnerons quelques exemples dans le chapitre IV.

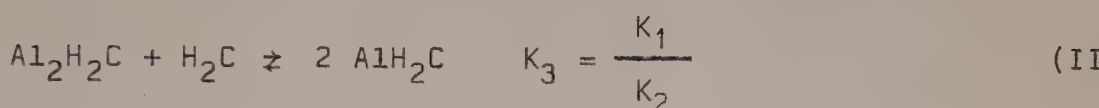
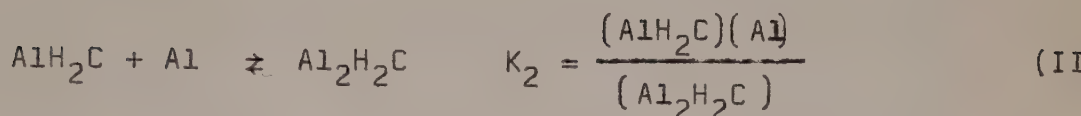
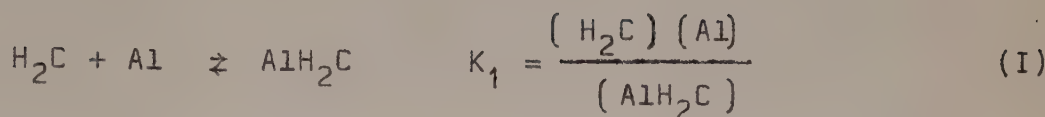
B - ETUDE DES REACTIONS DANS UN SOLVANT NON DISSOCIANT ACTIF

I - Solvant acide

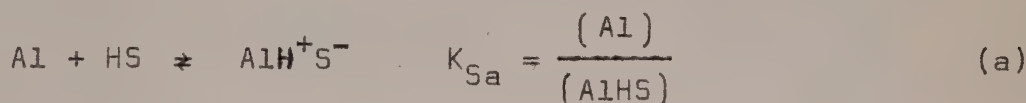
Un tel solvant peut abaisser la basicité apparente des alcaloïdes ; les dosages sont alors moins précis que dans un solvant inerte.

a) les réactions

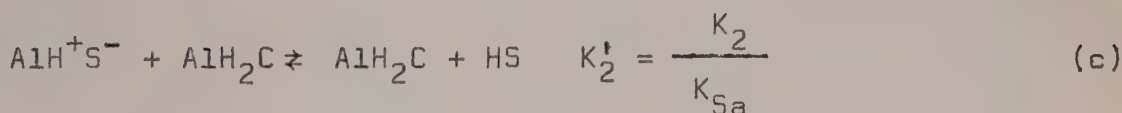
Aux réactions :



déjà étudiées dans les solvants inertes, il faut ajouter celles attachées à la solvolysé de l'alcaloïde :



$$\text{p}K'_1 = \text{p}K_1 - \text{p}K_{\text{Sa}} \quad (61)$$



$$\text{p}K'_2 = \text{p}K_2 - \text{p}K_{\text{Sa}} \quad (62)$$

L'activité du solvant n'influe que sur les réactions (I) et (II). La constante K_3 conserve la valeur qu'elle avait

D I F F E R E N T E S P O S I T I O N S
P O S S I B L E S D E L A L I M I T A T I O N D E L ' E C H E L L E U N I Q U E P A R
U N S O L V A N T A C I D E

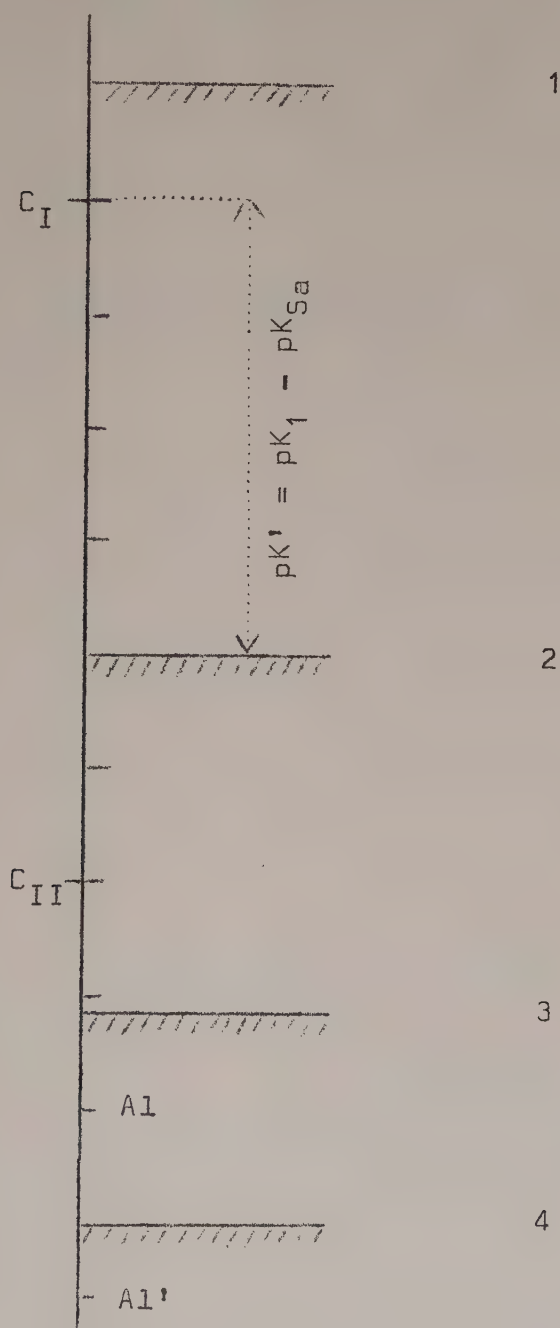


Figure 29

dans un solvant inerte (K_1/K_2) ; on peut donc encore considérer la réaction (III) comme quantitative.

Pour étudier l'influence du solvant sur les réactions (I) et (II), nous envisagerons plusieurs cas, suivant la position sur l'échelle unique de la limitation par l'acidité du solvant.

Nous avons représenté sur la figure 29 les différentes positions possibles.

1) La limitation par l'acidité du solvant est située au-dessus de C_I (position 1)

On a :

$$pK_2 < pK_1 < pK_{Sa}$$

$$pK'_1 < 0 \text{ d'après (61)}$$

$$pK'_2 < 0 \text{ d'après (62)}$$

Dans ce cas les réactions (b) et (c) n'ont pas lieu, tout l'alcaloïde restant combiné au solvant ; la solution reste incolore.

2) La limitation par l'acidité du solvant est située entre C_I et C_{II} (position 2)

$$\text{On a : } pK_2 < pK_{Sa} < pK_1 \quad ; \quad pK'_2 < 0 \text{ d'après (62).}$$

La réaction (c) n'a pas lieu, et il n'apparaît pas de composé foncé ; le dosage volumétrique n'est donc pas possible dans ce solvant.

Par contre la fonction acide fort du colorant arrache l'alcaloïde uni au solvant suivant la réaction d'équilibre (b)

pour donner du composé jaune AlC. En employant un excès de colorant, d'autant plus grand que la limitation par le solvant est plus proche de C_I sur l'échelle unique, on peut transformer tout Al en AlC ; le dosage colorimétrique est alors possible (figure 30).

3) La limitation par l'acidité du solvant est située entre C_{II} et Al (position 3)

On a : $0 < pK_{Sa} < pK_2$; pK_{Sa} est négligeable devant pK_1 , et la réaction (b) est quantitative ; la réaction (c) est une réaction d'équilibre, avec :

$$pK'_2 = pK_2 - pK_{Sa}$$

Tout se passe donc comme si l'alcaloïde était "remonté" à la position 3 sur l'échelle ; le dosage volumétrique est possible, mais moins sensible que dans un solvant inerte ; le dosage colorimétrique est par contre possible au même titre que dans un tel solvant (figure 31).

4) La limitation par l'acidité du solvant est située au-dessous de Al (position 4)

Il n'y a plus de limitation par le solvant, qui se comporte comme un solvant inerte.

Certains solvants acides peuvent être de type 4 vis-à-vis des alcaloïdes bases faibles, situés au-dessus de la limitation, tels que Al (figure 29) et de type 3 vis-à-vis des alcaloïdes bases fortes, situés au-dessous de la limitation comme Al' ; les réactions ne sont alors modifiées que pour ces derniers, qui présentent tous le même pK apparent, et dont les courbes des variations continues doivent être identiques avec un même colorant.

FIGURE 30

nt acide de type 2

riations de $[AlC]$ et $[Al_2C]$
fonction de x :

- dans un solvant inerte
- dans un solvant acide
de type 2 (il ne se
forme que du composé
jaune AlC).

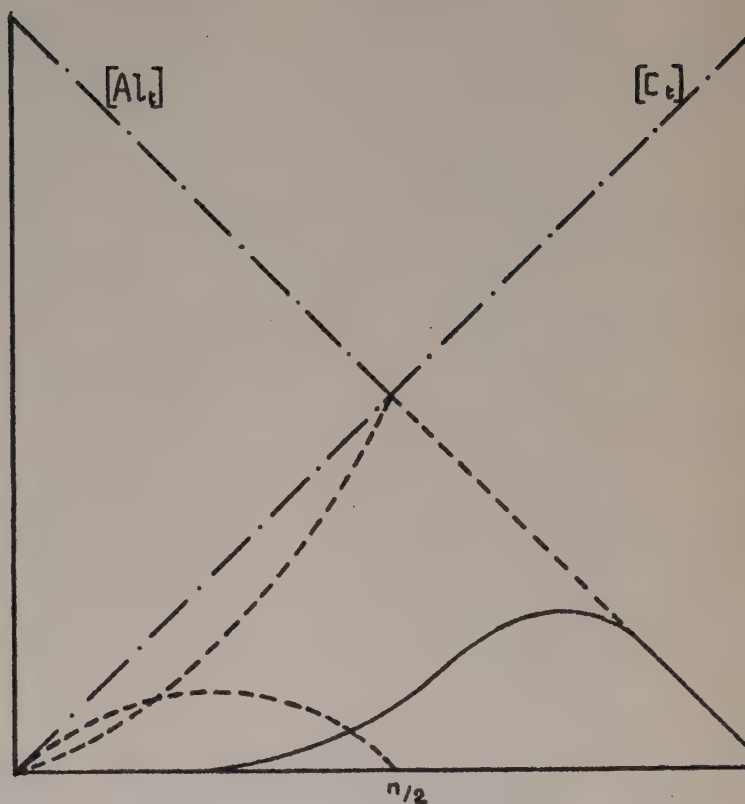
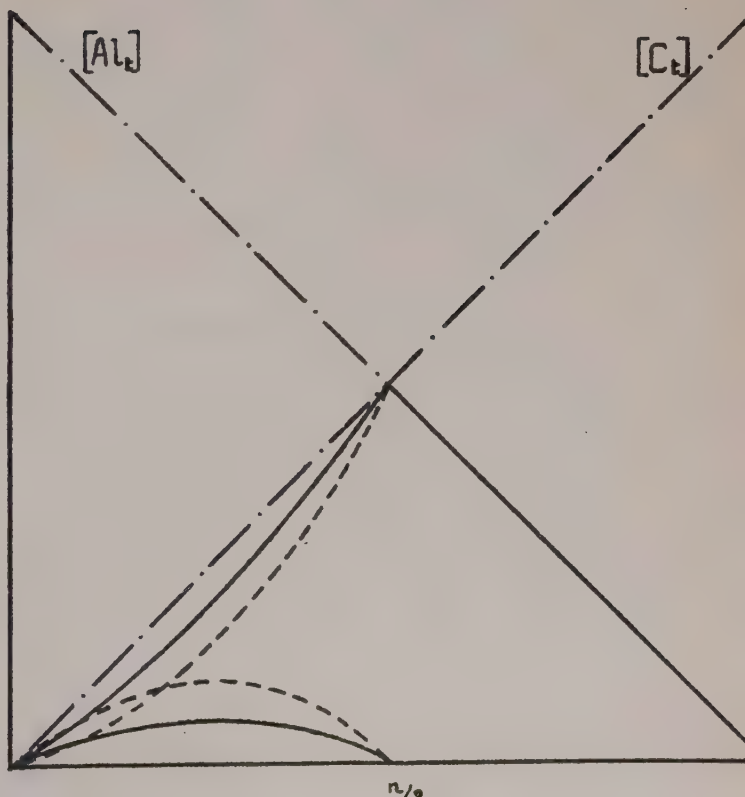


FIGURE 31

nt acide de type 3

riations de $[AlC]$ et $[Al_2C]$
fonction de x :

- dans un solvant inerte
- dans un solvant acide
de type 3



b) Applications pratiques

α - Dosage volumétrique

Ce dosage est possible dans les solvants de types (3) et (4) ($pK_{Sa} < pK_2$). Il est d'autant plus sensible que pK_{Sa} est plus petit. Pratiquement, le dosage volumétrique est possible dans un solvant acide s'il se forme du composé foncé quand on ajoute le colorant à l'alcaloïde, tous les deux étant en solution dans ce solvant.

β - Dosage colorimétrique

Ce dosage est possible dans les solvants de types (3) et (4), ainsi que dans les solvants de type (2) à condition d'employer un excès de colorant d'autant plus fort que pK_{Sa} est plus élevé.

γ - Localisation sur les échelles d'acidité de la limitation par un solvant acide

Il est important de localiser la limitation par un solvant acide pour prévoir d'abord la possibilité, ensuite la précision d'un dosage dans ce solvant ; pour cela on mélange la base et le colorant, en proportions connues (Al_t) et (C_t) dans le solvant à étudier ; trois cas peuvent se présenter :

- s'il n'apparaît pas de coloration, le solvant est de type (1) ;
- s'il ne se forme que du composé jaune lorsque (Al_t) > (C_t), le solvant est de type (2) ;
- si dans les mêmes conditions, il se forme du composé foncé, le solvant est de type (3) ou (4).

La limitation sur l'échelle ne peut être localisée que pour les solvants de types (2) et (3) :

- Solvant de type (2)

De la relation (61), on déduit :

$$pK_{Sa} = pK_1 - pK'_1 \quad (6)$$

Or :

$$K'_1 = \frac{(C) (AlHS)}{(AlC)} \quad (6)$$

Lorsque $(C_t) \geq (Al_t)$, le colorant se trouve à la fois sous forme libre et combinée :

$$(C_t) = (C) + (AlC)$$

d'où :

$$(C) = (C_t) - (AlC)$$

L'alcaloïde se trouve totalement sous forme combinée, car il ne peut exister d'Al libre en présence de C libre d'après la réaction (I) :

$$(Al_t) = (AlHS) + (AlC)$$

d'où :

$$(AlHS) = (Al_t) - (AlC)$$

Remplaçons dans la relation (64) (C) et $(AlHS)$ par leurs valeurs :

$$K'_1 = \frac{((C_t) - (AlC)) ((Al_t) - (AlC))}{(AlC)} \quad (6)$$

Lorsque $(C_t) = (Al_t)$, la relation (65) devient :

$$K'_1 = \frac{((C_t) - (AlC))^2}{(AlC)}$$

La mesure de D_{AlC} permet donc de déterminer le pK_{Sa} d'un solvant acide de type (2), par application des relations (63) et (65), si l'on connaît (C_t) , (Al_t) et le pK_1 de la base dans un solvant inerte.

- Solvant de type (3)

De la relation (62), on déduit :

$$pK_{Sa} = pK_2 - pK'_2 \quad (6)$$

Or :

$$K'_2 = \frac{(AlHS) (AlC)}{(Al_2C)} \quad (6)$$

Si $(Al_t) > (C_t)$, on peut écrire :

$$(Al_2C) = (C_t) - (AlC)$$

$$(AlHS) = (Al_t) - (AlC) - 2(Al_2C)$$

(en négligeant la portion d'alcaloïde libre (Al))

$$K'_2 = \frac{(AlC) ((Al_t) + (AlC) - 2(C_t))}{(C_t) - (AlC)} \quad (6)$$

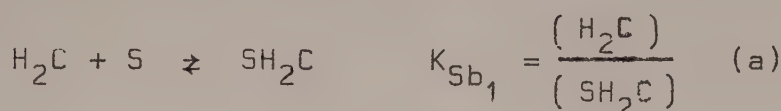
La mesure de D_{AlC} suffit donc pour déterminer le pK_{Sa} d'un solvant acide de type (3), par application des relations (66) et (68), si l'on connaît (C_t) , (Al_t) et le pK_2 de la base dans un solvant inerte.

II - Solvant basique

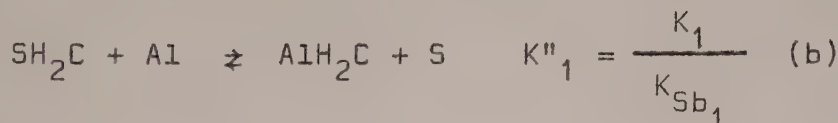
a) Les réactions

Dans un solvant basique, il faut ajouter aux réactions (I) (II) et (III) celles attachées à la solvolysse des deux fonctions acides du colorant.

- Solvolysse de la fonction acide fort

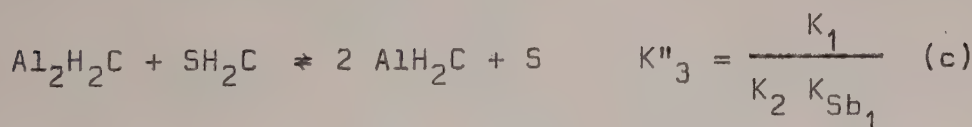


Du fait de cette solvolysse, il y a transformation de la réaction (I) :



$$pK''_1 = pK_1 - pK_{Sb_1} \quad (6)$$

et de la réaction (III) :



$$pK''_3 = pK_1 - pK_2 - pK_{Sb_1} = \Delta pK - pK_{Sb_1} \quad (7)$$

D I F F E R E N T E S P O S I T I O N S
P O S S I B L E S D E L A L I M I T A T I O N D E L ' E C H E L L E U N I Q U E
P A R U N S O L V A N T B A S I Q U E

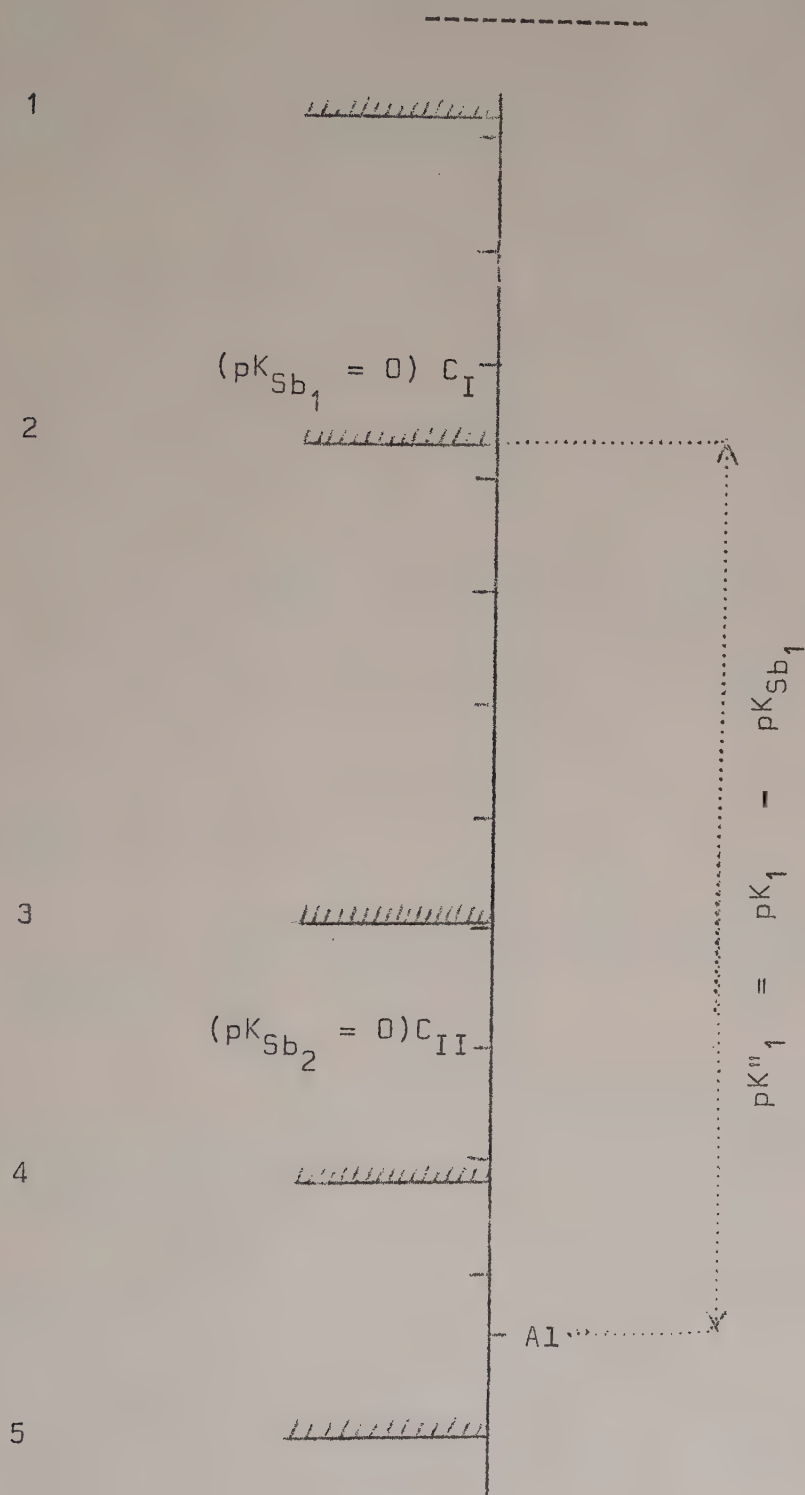


Figure 32

- Solvolyse de la fonction acide faible



$$\text{pK}''_2 = \text{pK}_2 - \text{pK}_{\text{Sb}_2} \quad (7)$$

Pour étudier l'influence du solvant sur les réactions (I), (II) et (III), nous envisagerons plusieurs cas, suivant la position sur l'échelle unique de la limitation par la basicité du solvant.

Nous avons représenté sur la figure 32 les différentes positions possibles.

1) La limitation par la basicité du solvant est située au-dessus de C_I (position 1)

$$\text{On a : } \text{pK}_{\text{Sb}_1} < 0$$

Le solvant n'est pas assez basique pour entrer en compétition avec l'alcaloïde vis-à-vis de l'une ou l'autre fonction acide du colorant.

Les courbes des variations continues dans un solvant de type 1 sont représentées sur la figure 33.

Lorsque $x < n/2$, les courbes des variations continues sont identiques à celles obtenues dans un solvant inerte et le dosage volumétrique est possible.

Lorsque $x \geq n/2$, le colorant, en excès par rapport à l'alcaloïde, se combine au solvant suivant la réaction de solvolysé (a) ; on a alors :

$$x = (C) + (SC) + (AlC) \quad (71)$$

Or :

$$(C) = K_{Sb_1} (SC)$$

et :

$$(AlC) = (Al_t) = n - x$$

En remplaçant dans la relation (72) (C) et (AlC) par ces valeurs on trouve :

$$\begin{aligned} 2x - n &= (K_{Sb_1} + 1) (SC) \\ (SC) &= \frac{2x - n}{1 + K_{Sb_1}} \end{aligned} \quad (73)$$

Donc la courbe représentant la variation de (SC) en fonction de x est une droite.

La courbe représentative de (C_c) est aussi une droite, puisque elle représente la résultante de deux fonctions linéaires : (AlC) et (SC) . On démontre aisément que l'équation de cette droite est :

$$(C_c) = (AlC) + (SC) = \frac{(1 - K_{Sb_1}) x + nK_{Sb_1}}{1 + K_{Sb_1}}$$

Cette droite est descendante pour $K_{Sb_1} > 1$ (ou $pK_{Sb_1} < 0$).

Si $pK_{Sb_1} = 0$, $K_{Sb_1} = 1$, $(SC) = (C)$, $(C_c) = n/2$; la droite (C_c) est parallèle à l'axe des abscisses.

On démontre aussi que, pour $x > n/2$:

$$(Al_t) = (AlC) = \frac{(1 + K_{Sb_1})(C_c) - (C_t)}{K_{Sb_1}} \quad (74)$$

Si $x = n$, c'est-à-dire en l'absence de base, on a :

$$K_{Sb_1} = \frac{n - (SC)}{(SC)} = \frac{(C_t) - (SC)}{(SC)} \quad (75)$$

Il est donc aisé de mesurer K_{Sb_1} pour un solvant basique donné ; on peut alors y doser colorimétriquement un alcaloïde en utilisant la relation (74) ; il suffit de connaître la concentration (C_t) du colorant dans la solution.

2 - La limitation par la basicité du solvant est située légèrement au-dessous de C_I sur l'échelle unique (position 2)

On a : $pK_{Sb_1} > 0$

pK_{Sb_1} étant très faible, on peut en général le négliger devant pK_1 et ΔpK dans les relations (69) et (70), et considérer que les réactions (b) et (c) sont quantitatives.

Les courbes des variations continues dans un solvant de type 2 sont représentées sur la figure 33.

Lorsque $x \leq n/2$, les courbes des variations continues sont les mêmes que dans un solvant inerte, et le dosage volumétrique est possible.

Lorsque $x > n/2$, les relations établies dans le cas d'un solvant de type 1 sont encore applicables ; comme $K_{Sb_1} > 1$, la droite représentative de (C_c) est ascendante.

FIGURE 33

basiques de type 1 et 2

Variations de $[C_c]$ et $[Al_2C]$
en fonction de x :

- dans un solvant de type 1
- dans un solvant de type 2

Variations de $[SC]$ en fonction de x .

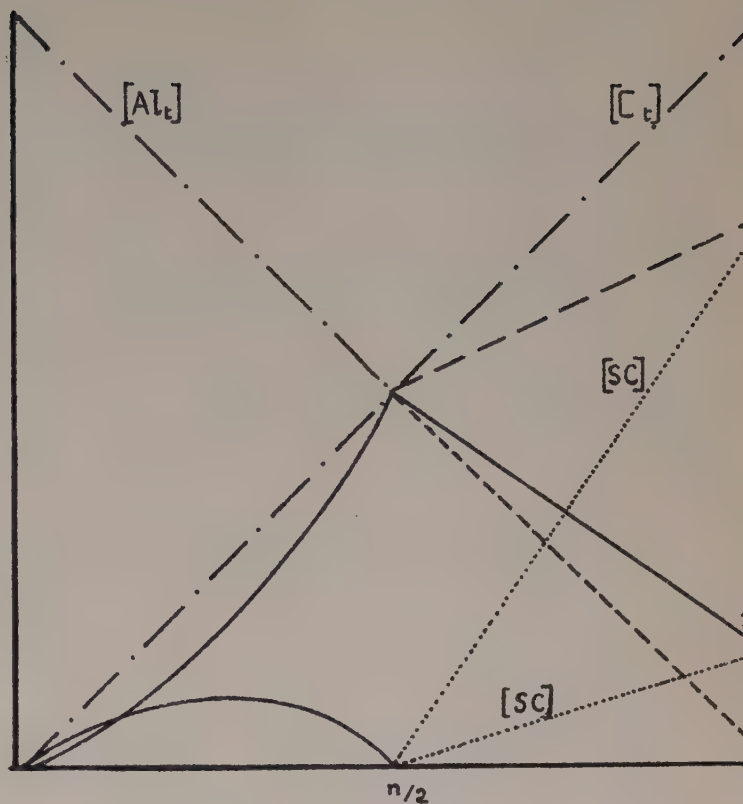


FIGURE 34

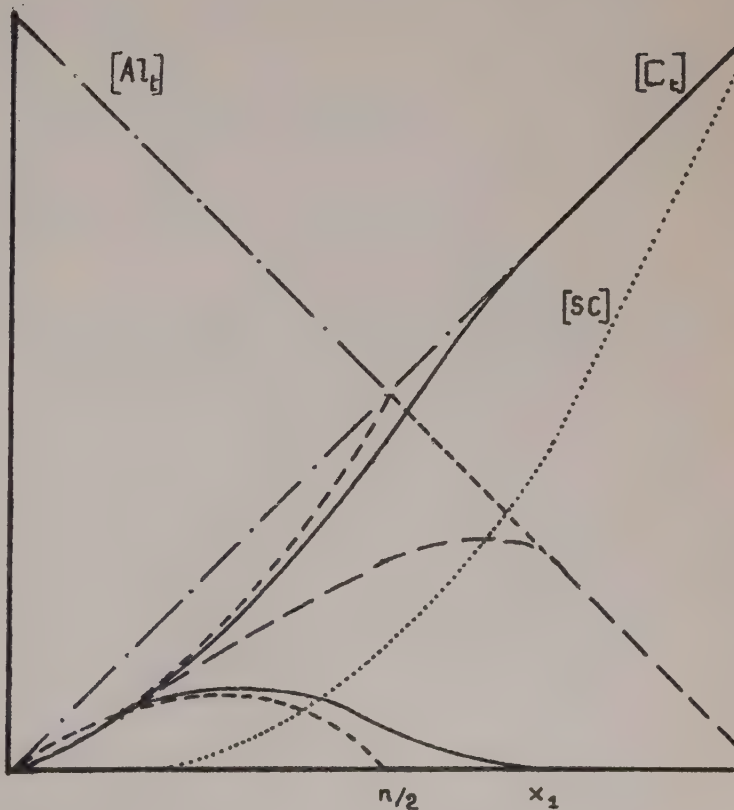
ats basiques de type 3

Variations de $[C_c]$ et $[Al_2C]$

Variations de $[AlC]$

Variations de $[SC]$

en fonction de x dans
un solvant de type 3



Le dosage colorimétrique est théoriquement possible, en utilisant la relation (74).

3 - La limitation par la basicité du solvant est située un peu au-dessus de C_{II} sur l'échelle unique (position 3)

Dans les relations (69) et (70), pK_{Sb} n'est plus négligeable devant pK_1 et ΔpK ; les réactions¹ (a) et (c) ne sont plus quantitatives.

La figure 34 représente l'aspect des courbes des variations continues dans un solvant de type 3.

Lorsque $x < n/2$, deux cas peuvent se présenter :

- si x est très petit, l'alcaloïde est en grand excès sur le colorant ; celui-ci se trouve alors en totalité sous forme de AlC et Al_2C ; les courbes se superposent à celles obtenues dans un solvant inerte.

- si la valeur de x s'élève, la solution contient en même temps : SC , AlC , Al_2C et Al ; on a :

$$x = (SC) + (AlC) + (Al_2C)$$

$$n - x = (Al) + (AlC) + 2(Al_2C)$$

Une partie de C s'unit au solvant ; il reste donc plus de Al libre que dans un solvant inerte et par suite il se forme plus de composé foncé.

Lorsque $x = n/2$, il reste du Al libre puisque la réaction (b) est une réaction d'équilibre, et par suite du Al_2C d'après la réaction (II). Le dosage volumétrique est entaché d'une erreur par excès.

La valeur x_1 de x pour laquelle le composé foncé Al_2C disparaît est supérieure à $n/2$; pour cette valeur, tout Al se trouve à l'état de AlC :

$$x = (SC) + (AlC)$$

Pour $x > x_1$, on a, comme dans le cas des solvants de type 1 et 2 :

$$x = (C) + (SC) + (AlC)$$

$$(C_c) = (SC) + (AlC)$$

Les relations établies dans le cas des solvants de type 1 et 2 sont encore applicables en théorie : la courbe représentative de (C_c) est une droite ascendante.

En fait, la valeur de K_{Sb_1} est assez élevée pour qu'on puisse considérer que tout le colorant non combiné à l'alcaloïde est uni au solvant sous la forme SC .

Dans ce cas $(C) = 0$, $(C_c) = x$; la droite (C_c) se superpose à la droite (C_t) . Le dosage colorimétrique n'est plus possible.

4) La limitation par la basicité du solvant est située entre C_{II} et Al sur l'échelle unique (position 4)

Il se forme du composé foncé entre solvant et colorant en l'absence d'alcaloïde. Ni le dosage volumétrique, ni le dosage colorimétrique ne sont possibles. On peut éventuellement étudier l'échange entre solvant et alcaloïde au niveau de la seconde fonction acide du colorant si la longueur d'onde d'absorption de S_2C est différente de celle de Al_2C .

5 - La limitation par la basicité du solvant est située au-dessous de A1 (position 5)

Tout le colorant est combiné au solvant et l'alcaloïde reste dissous à l'état libre A1.

b) Applications pratiques

α - Dosage volumétrique

Ce dosage n'est possible que dans les solvants de type 1 et 2, où pK_{Sb_1} est très faible ; lorsque pK_{Sb_1} n'est pas négligeable devant pK_1 et ΔpK , le dosage volumétrique subit une erreur par excès.

β - Dosage colorimétrique

Ce dosage n'est, lui aussi, possible que dans les solvants de type 1 et 2, en appliquant la relation (74).

γ - Localisation sur l'échelle unique de la limitation par un solvant basique

Si la solution de colorant dans le solvant étudié est jaune, ce solvant est de type 1, 2 ou 3 ; K_{Sb_1} est donné par la relation (75) :

$$K_{Sb_1} = \frac{(C_t) - (SC)}{(SC)}$$

Si la solution de colorant dans le solvant étudié est foncée, ce solvant est de type 4 ou 5 ; la valeur de K_{Sb_2} est donnée par la formule :

$$K_{Sb_2} = \frac{(SC)}{(S_2C)} = \frac{(SC)}{(C_t) - (SC)}$$

Nous avons été amenés à mesurer le pK_{Sb_1} de solvants légèrement basiques contenant des traces d'impuretés basiques de types 2 ou 3, difficiles à éliminer ; afin de distinguer l'influence de ces impuretés de celle de la basicité propre du solvant sur l'intensité de la coloration jaune, nous avons tracé la courbe expérimentale représentant les variations de la densité optique D à 415 m μ en fonction de la concentration (C_t) en colorant dans le solvant étudié, en l'absence d'alcaloïde ; nous l'appellerons : "courbe des concentrations croissantes en colorant".

Trois cas peuvent se présenter en théorie :

- si le solvant est légèrement basique et ne contient pas d'impuretés, D est une fonction linéaire de n (figure 35 ; courbe A) ; en effet :

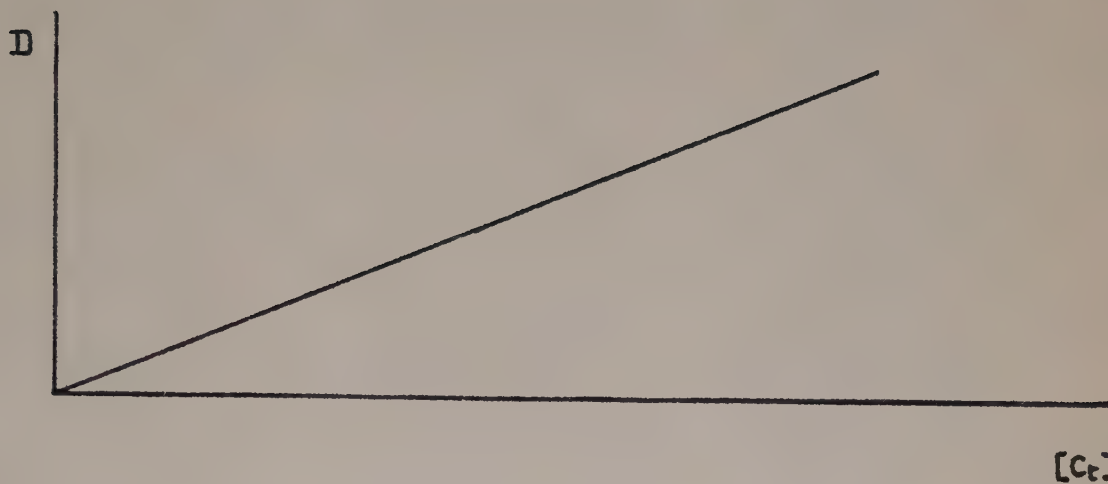
$$D = \epsilon (SC)$$

et comme : $(SC) = \frac{(C_t)}{1 + K_{Sb_1}}$ d'après la relation (75),

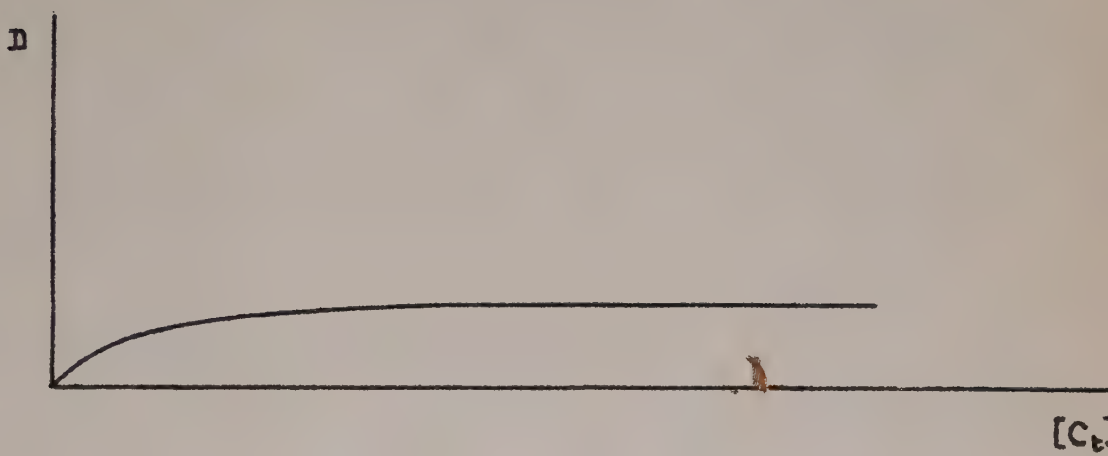
$$D = \frac{\epsilon}{1 + K_{Sb_1}} (C_t)$$

figure 35

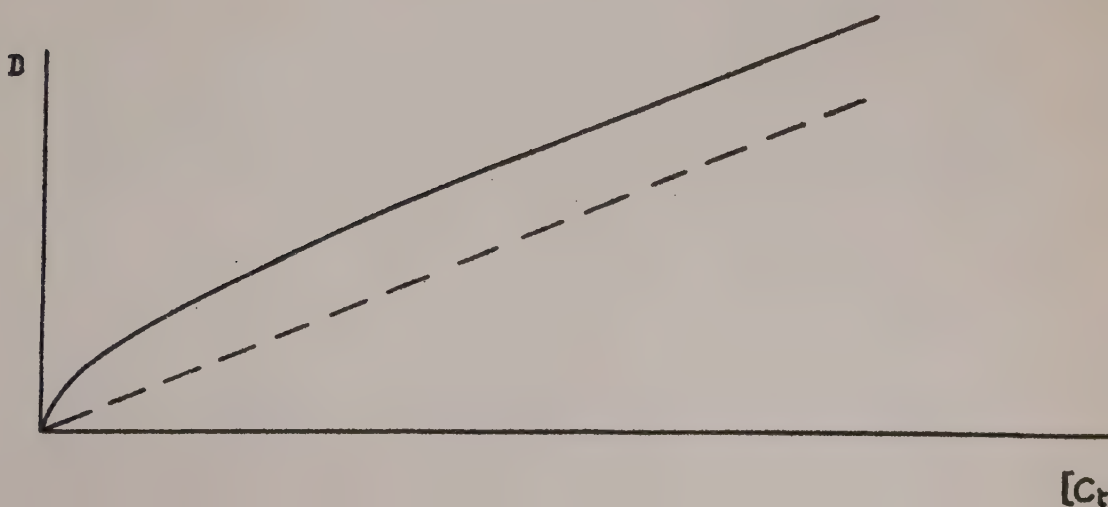
pe A



pe B



pe C



La pente de cette droite permet d'obtenir K_{Sb_1} :

$$K_{Sb_1} = \frac{(C_t) - \frac{D}{\epsilon}}{\frac{D}{\epsilon}} = \frac{\epsilon (C_t) - D}{D}$$

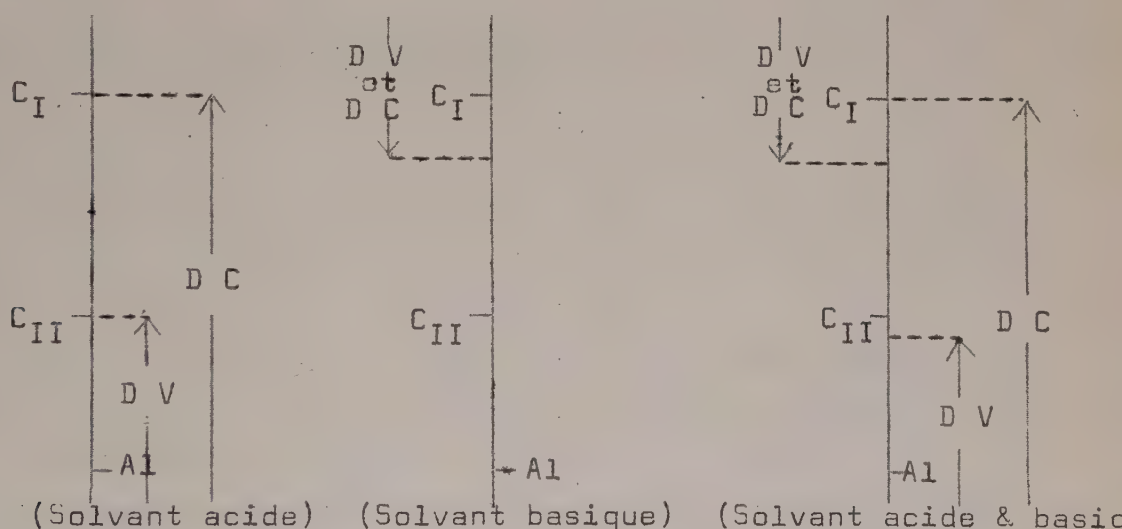
- si le solvant est inerte mais contient une impureté légèrement basique de type 2, on doit obtenir la courbe B ; on peut en pratique considérer qu'à partir d'une certaine valeur de (C_t) , l'impureté est complètement neutralisée ; la courbe devient alors une droite parallèle à l'axe des abscisses.

- si le solvant est légèrement basique et contient une impureté, elle aussi légèrement basique, on obtient la courbe C, résultante de la composition des deux précédentes ; en effectuant une translation verticale de la partie rectiligne de cette courbe, qui la fasse passer par le point O, on obtient la droite A des concentrations croissantes en bleu de bromophénol dans le solvant pur. On peut alors calculer K_{Sb_1} à l'aide de la relation (75).

III - Solvant à la fois acide et basique

C'est le cas le plus général. Le solvant peut agir à la fois sur la fonction basique de l'alcaloïde et sur les fonctions acides du colorant. On ne peut effectuer le dosage volumétrique ou colorimétrique des alcaloïdes dans ce solvant que si les limitations de l'échelle unique par son acidité et sa basicité sont situées dans les limites fixées précédemment.

En résumé, l'étude des modifications subies par les courbes des variations continues dans un solvant donné permet de mettre en évidence l'acidité ou la basicité de ce solvant, et dans de nombreux cas de localiser les limitations qu'il impose à l'échelle unique ; on détermine alors aisément si ce solvant peut être employé pour le dosage volumétrique ou colorimétrique des alcaloïdes ; la figure 36 représente les positions des limitations pour lesquelles ces dosages sont possibles en théorie ; insistons toutefois sur le fait que ces positions ont été fixées à l'aide de considérations qualitatives ; pour le dosage volumétrique en particulier, elles doivent être complétées dans chaque cas par un calcul de la précision, effectué à l'aide de la relation (11) ou du tableau VII, où $c = i$, et où pK est remplacé par pK' ou pK'' , ΔpK par $\Delta pK'$.



- $D V$: zone de l'échelle où la limitation par le solvant ne gêne pas le dosage volumétrique
- $D C$: zone de l'échelle où la limitation par le solvant ne gêne pas le dosage colorimétrique

FIGURE 36

C H A P I T R E I V

ETUDE QUANTITATIVE DES REACTIONS EN MILIEU PEU DISSOCIANT RESULTATS EXPERIMENTAUX

Nous avons effectué cette étude dans différents solvants afin de rechercher ceux qui se prêtaient le mieux au dosage volumétrique ou colorimétrique des alcaloïdes.

Nous préciserons d'abord les modalités techniques de nos expériences : verrerie utilisée, choix et purification des solvants, des colorants et des alcaloïdes, mode opératoire adopté ; puis nous étudierons les courbes expérimentales obtenues dans différents solvants par la méthode des variations continues.

A - DESCRIPTION DES TECHNIQUES EMPLOYEES

1) La verrerie

Les colorants étudiés donnent avec le verre ordinaire des composés colorés en jaune ou en bleu ; aussi avons-nous toujours employé de la verrerie Pyrex.

Pour le nettoyage de cette verrerie, nous avons écarté l'emploi des détergents usuels qui contiennent souvent des sels d'ammonium quaternaire donnant des composés foncés avec les colorants. La verrerie a été lavée à l'eau ordinaire, puis rincée plusieurs fois à l'eau distillée, enfin séchée à l'étuve.

Les solutions titrées d'alcaloïdes ou de colorant ont été mesurées à l'aide de microburettes "Colordur" de 2 ml, à bande photophore ; les additions de solvant pur ont été effectuées à la burette ; nous avons évité l'usage des pipettes, avec lesquelles il est difficile de mesurer avec pré-

cision certains solvants organiques comme le chloroforme ou l'éther.

2) Les substances réagissantes

a) Les solvants

Il n'existe pas en pratique de solvant non dissociant, mais certains solvants de constante diélectrique faible s'en rapprochent assez pour qu'on puisse les considérer comme tels.

α - Solvants peu dissociants inertes (tableau XVII)

Ces solvants, dont les caractères acido-basiques sont assez faibles pour qu'on puisse les considérer en pratique comme des solvants inertes, peuvent en principe être utilisés pour le dosage volumétrique ou colorimétrique des alcaloïdes.

T A B L E A U X V I I

Solvant	Constante diélectrique	Caractères acido-basiques
<u>HYDROCARBURES</u>		
n-Hexane	1,9	pratiquement inerte
Cyclohexane	2	" "
Benzène	2,3	très faiblement basique
<u>DERIVES HALOGENES DES HYDROCARBURES</u>		
Tétrachlorure de carbone	2,2	pratiquement inerte
Chloroforme	4,8	très faiblement acide et très faiblement basique
Chlorobenzène	5,6	très faiblement basique

Parmi les solvants du tableau XVII, les plus inertes : n-hexane, cyclohexane, tétrachlorure de carbone, sont de mauvais solvants des alcaloïdes et des colorants dérivés de la phénolsulfonephthaléine ; leur utilisation est donc limitée. Aussi avons-nous étudié le benzène, le chlorobenzène et le chloroforme, qui ont un pouvoir dissolvant plus élevé, tout en ayant une constante diélectrique encore faible.

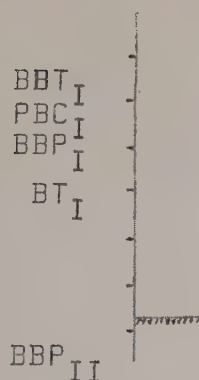
Les dérivés halogénés de l'éthane et de l'éthylène n'ont pas été retenus ; ils ont en effet des constantes diélectriques voisines de 10 ; leur pouvoir dissociant n'est donc pas négligeable pour des concentrations très faibles de substance dissoute.

β - Solvants peu dissociants actifs

La plupart de ces solvants sont à la fois acides et basiques. Nous distinguerons deux groupes :

- solvants plus acides que basiques (tableau XVIII)

Les acides aliphatiques, à l'exception de l'acide formique sont des solvants peu dissociants, de constantes diélectriques faibles. La limitation de l'échelle unique par l'acidité de l'acide acétique a été située sur la figure 37 par rapport aux fonctions acides de différents colorants (d'après TREMILLON (45)) ; les fonctions acides faibles se trouvent



au-dessous de la limitation. L'acide acétique est donc un solvant acide de type 2, où le dosage volumétrique des alcaloïdes est impossible. Par contre on peut théoriquement l'employer pour le dosage colorimétrique ; en pratique la purification de ce solvant est difficile ; les solutions de colorants dans l'acide acétique pur pour analyses, même redis-

Figure 37

T A B L E A U XVIII

Solvant	Constante diélectrique	Caractères acido-basiques
<u>ACIDES ALIPHATIQUES</u>		
Acide propionique	3,44	pK_{H_2O} (HA/A ⁻) : 4,9
Acide acétique	6,15	" 4,75
Acide formique	58,50	" 3,75
<u>DERIVES HALOGENES DES ACIDES ALIPHATIQUES</u>		
Acide trichloracétique	4,50	" 0,7
Acide dichloracétique	7,80	" 1,3
<u>PHENOLS</u>		
Phénol	9,80	{ " 9,9 (HB ⁺ /B) : compris entre -6 et -2

tillé, sont intensément jaunes ; nous n'avons pas retenu ce solvant pour nos dosages.

Les dérivés halogénés des acides aliphatiques sont des solvants très acides, de types 1 ou 2 ; ils sont donc inutilisables pour les dosages volumétrique et colorimétrique.

Le phénol, de constante diélectrique $\epsilon = 9,8$, d'acidité et de basicité faibles, pourrait être retenu comme solvant peu dissociant pour les dosages volumétrique et colorimétrique ; il est cependant d'emploi difficile ; il est parfois avantageux de l'utiliser en solution dans un solvant inerte où il augmente la solubilité des alcaloïdes.

Nous avons étudié le solvant de GYENES, solution à 20 % (p/v) de phénol dans le tétrachlorure de carbone (20).

T A B L E A U X I X

Solvant	Constante diélectrique	Caractères acido-basiques
<u>AMINES</u>		
Butylamine	5,3	$pK_{H_2O} (HB^+/B) : 10,6$
Triéthylamine	2,4	" 10,9
p-Toluidine	5	" 5,5
Aniline	6,9	" 4,6
<u>ETHERS OXYDES</u>		
Ether éthylique	4,3	" - 3,6
<u>ETHERS CYCLIQUES</u>		
p-Dioxanne	2,2	" - 4,4
Tétrahydrofuranne	7,4	" - 2,1
<u>ACETALS</u>		
Méthylal	2,7	
Acétal	3,8	
<u>ESTERS</u>		
Acétate d'isoamyle	4,6	
Acétate de butyle	5	
Acétate d'éthyle	6	" - 5,1
Salicylate de méthyle	9,4	{ " ? (HA/A^-) : 10,2

- solvants plus basiques qu'acides (tableau XIX)

Les amines, de constante diélectrique faible, sont des solvants basiques de types 4 ou 5 ; elles ne peuvent être utilisées ni pour le dosage volumétrique, ni pour le dosage colorimétrique des alcaloïdes.

Les autres solvants portés sur le tableau XIX sont peu dissociants et ne sont que faiblement basiques ; on peut donc en théorie les employer pour les deux types de dosages.

Nous avons étudié l'éther éthylique, le dioxanne, le tétrahydrofuranne, le méthylal, l'acétate d'éthyle et le salicylate de méthyle.

b) Le colorant

Parmi les différents colorants dérivés de la phénolsulfonéphtaléine, nous avons choisi le bleu de bromophénol, dont la fonction acide faible est la plus élevée sur l'échelle unique. Les solutions ont été préparées immédiatement avant l'emploi par pesée au 1/50 de mg. Lorsque la solubilité du colorant l'a permis, nous avons préparé une solution $10^{-3}M$, que nous avons ensuite diluée en fonction des expériences à effectuer.

c) L'alcaloïde

Nous avons choisi l'atropine, qui présente un certain nombre d'avantages ; elle est monobasique et son pK_A est élevé ; elle se dissout bien dans de nombreux solvants ; enfin elle est facile à purifier. Nous avons employé de l'atropine cristallisée Prolabo, qui a été lavée à l'eau distillée pour éliminer toutes traces de sels alcalins ; nous l'avons ensuite séchée sous vide, en présence d'anhydride phosphorique.

3) Le mode opératoire

Nous sommes partis en général de solutions $0,25 \cdot 10^{-3}M$ de colorant et d'alcaloïde dans le solvant à tester. Dans une

série de 20 tubes à essai numérotés de 1 à 20, nous avons mesuré 0,1 - 0,2 - 0,3 ... 1,8 - 1,9 - 2 ml de solution de colorant et nous avons complété à 2 ml par addition de 1,9 - 1,8 - 1,7 ... 0,3 - 0,2 - 0,1 ml de solution d'alcaloïde ; nous avons dilué ensuite par addition de 8 ml ($n = 0,5 \cdot 10^{-4}$) ou de 3 ml ($n = 10^{-4}$) de solvant. Il a été parfois nécessaire de renoncer à la dilution ($n = 0,25 \cdot 10^{-3}$), ou même d'opérer avec des solutions plus concentrées. Nous indiquerons pour chacun des solvants les valeurs de n choisies.

La mesure des densités optiques a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre GRAPHI-SPECTRAL JOUAN.

- COURBES EXPERIMENTALES OBTENUES DANS DIFFERENTS SOLVANTS

I - Solvants peu dissociants inertes

1 - Benzène

Purification du solvant

Nous avons employé du benzène pour analyses B.L.B., exempt de thiophène, redistillé au laboratoire.

Résultats

Le tableau XX et la figure 38 représentent les résultats obtenus pour $n = 0,5 \cdot 10^{-4}$ et $n = 10^{-4}$.

Lorsque $n = 10^{-4}$, la longueur d'onde d'absorption maximum du composé jaune évolue progressivement de 385 à 410 mμ, au fur et à mesure que la concentration en colorant augmente par rapport à celle de l'alcaloïde. Pour chaque valeur de x , nous avons pris arbitrairement comme ordonnée de D_{AIC} la densité optique correspondant au maximum d'absorption. Afin de bien marquer que ce composé jaune diffère d'une valeur de x à une autre et que de ce fait il n'est pas possible de lui

appliquer la loi de Beer, nous avons tracé en pointillé les courbes représentatives de D_{AlC} pour toutes les valeurs de λ_{max} différentes de 410 $m\mu$.

La longueur d'onde d'absorption maximum du composé foncé est fixe et égale à 565 $m\mu$. Le composé jaune AlC , à concentration assez forte, présente une légère absorption à cette longueur d'onde; nous avons déduit des lectures à 565 $m\mu$ la densité optique correspondante pour construire la courbe D_{Al_2C} .

Interprétation des résultats

Les courbes obtenues dans le benzène présentent de nombreux caractères communs avec les courbes théoriques (figure 21); nous avons tracé en pointillés sur la figure 38 les portions de courbes théoriques qui diffèrent des courbes expérimentales.

- pour $x < n/2$, la courbe expérimentale représentative de D_{Al_2C} est identique à la courbe théorique; le dosage volumétrique est donc possible.

- pour $x > n/2$, la courbe représentative de D_{AlC} est une droite descendante, qui coupe l'axe des abscisses au point $x = n$; le composé AlC obéit donc à la loi de BEER, et le dosage colorimétrique de l'alcaloïde est possible en présence d'un excès de colorant.

Il faut cependant noter quelques différences entre la courbe théorique et la courbe expérimentale.

Lorsque $x < n/2$, la courbe D_{AlC} pour $n = 10^{-4}$ est fortement infléchie vers la droite par rapport à la courbe théorique; mais cette courbe représente les densités optiques, entre 385 et 420 $m\mu$, de mélanges d' AlC et d'agrégats d'ions; le coefficient d'extinction molaire de ces derniers semble inférieur à $2,44 \cdot 10^4$. D'autre part, les longueurs d'onde d'ab-

$n = 0,5 \cdot 10^{-4}$ Numéro
du
tube

Composé jaune

 $\lambda_{\max}$

Dopt.

 $\lambda_{\max}$

Dopt.

Composé foncé

 $\lambda_{\max}$

Dopt.

Composé jaune

 $\lambda_{\max}$

Composé foncé

Dopt.

 $n = 10^{-4}$

1

410 m μ

0,032

565 m μ

0,046

385 m μ

0,050

565 m μ

0,136

2

0,059

0,087

-

0,084

0,266

3

0,102

0,130

390 m μ

0,122

0,349

4

0,146

0,153

-

0,184

0,428

5

0,210

0,176

395 m μ

0,234

0,463

6

0,274

0,172

400 m μ

0,302

0,446

7

0,352

0,171

405 m μ

0,384

0,428

8

0,437

0,152

410 m μ

0,626

0,358

9

0,516

0,076

410 m μ

0,886

0,245

10

0,590

0,007

>1

0,010

11

0,570

0,007

>1

0,010

12

0,517

0,007

>1

0,010

13

0,445

0,892

0,010

14

0,374

0,772

0,010

15

0,298

0,662

0,010

16

0,251

0,514

0,010

17

0,185

0,390

0,010

18

0,127

0,270

0,010

19

0,060

0,136

0,010

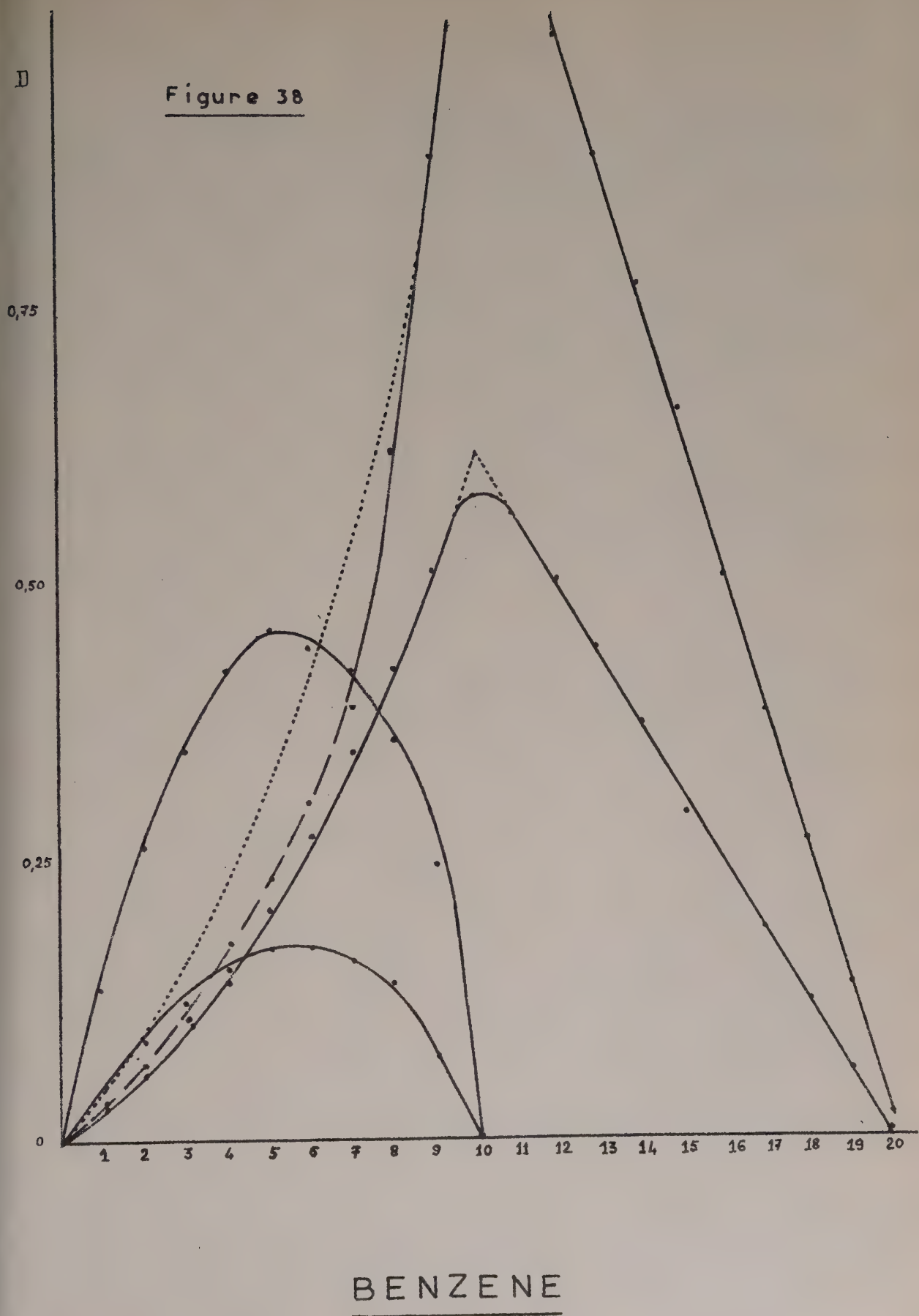
20

0,009

0,020

0,010

Figure 38



(Courbes des variations continues)

sorption maximum des différents composés de ces mélanges ne sont pas les mêmes et nous ne mesurons par notre méthode que la densité optique au maximum de la résultante des différentes bandes d'absorption.

Dans les mêmes conditions, c'est-à-dire si $x < n/2$, la courbe D_{AlC} pour $n = 0,5 \cdot 10^{-4}$ se superpose à la courbe théorique, aux erreurs d'expérience près : la concentration est trop faible pour qu'il se forme des agrégats d'ions.

Lorsque $x = n/2$ et $n = 0,50 \cdot 10^{-4}$, la valeur de D_{AlC} est légèrement inférieure à la valeur théorique ; la concentration est insuffisante pour que la réaction I soit rigoureusement quantitative, lorsque la concentration en alcaloïde est égale à celle en colorant.

Applications pratiques

Le benzène ne présente en pratique qu'un intérêt assez faible pour les dosages, car c'est un mauvais solvant des colorants, des alcaloïdes et surtout du composé foncé Al_2C .

2 - Chlorobenzène

Purification du solvant

Du chlorobenzène pur B.L.B. a été purifié par la méthode de Mc ALPINE et SMYTH (50, p. 408) : agitation à plusieurs reprises avec de l'acide sulfurique concentré, jusqu'à ce que celui-ci reste incolore ; lavage avec de l'eau distillée, puis avec une solution aqueuse à 5 % de carbonate monopotassique ; séchage sur chlorure de calcium anhydre, additionné de 10 % environ de carbonate de potassium anhydre ; enfin distillation.

Résultats

Le tableau XXI et la figure 39 représentent les résultats obtenus pour $n = 0,5 \cdot 10^{-4}$, seule concentration étudiée ; les

T A B L E A U XXI

Chlorobenzène

Numéro du tube	$n = 0,5 \cdot 10^{-4}$			
	Composé jaune		Composé foncé	
	$\lambda_{\max}$	Dopt.	$\lambda_{\max}$	Dopt.
1	400 m μ	0,016	565 m μ	0,064
2	-	0,043		0,134
3	400-410 m μ	0,070		0,190
4	400-410 m μ	0,114		0,236
5	410 m μ	0,160		0,246
6		0,226		0,244
7		0,296		0,226
8		0,382		0,180
9		0,506		0,094
10		0,582		0,009
11		0,534		0,008
12		0,482		0,008
13		0,430		
14		0,370		
15		0,310		
16		0,252		
17		0,190		
18		0,124		
19		0,068		
20		0,008		

D

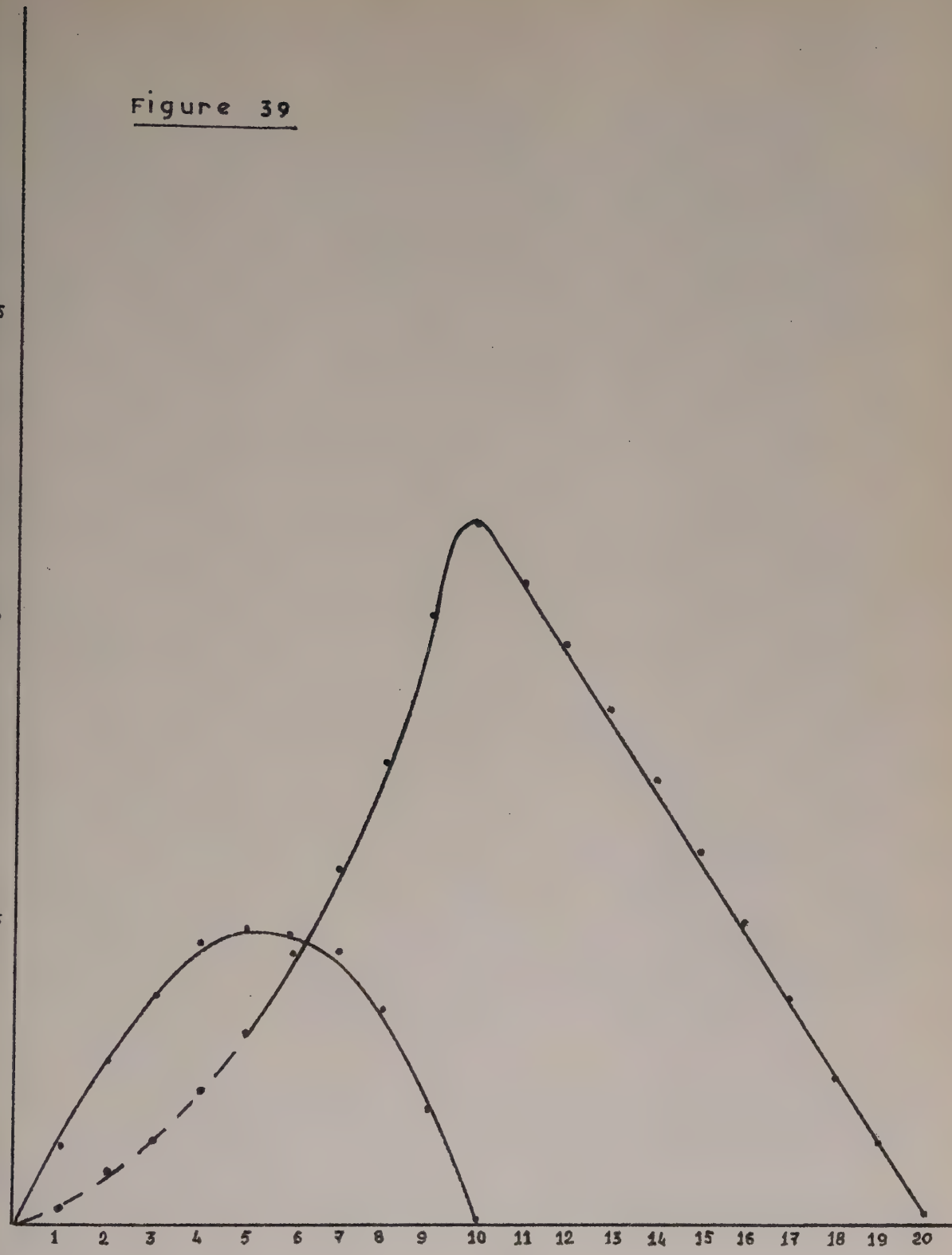
Figure 39

0,75

0,50

0,25

0



CHLOROBENZENE

(Courbes des variations continues)

courbes sont pratiquement identiques à celles correspondant au benzène : mêmes longueurs d'onde d'absorption maxima, densités optiques voisines. On note simplement une proportion un peu plus forte de composé foncé. Les solubilités des alcaloïdes, du bleu de bromophénol et du composé Al_2C étant de même ordre dans les deux solvants, le chlorobenzène est comparable au benzène quant aux applications pratiques.

3 - Chloroforme pur

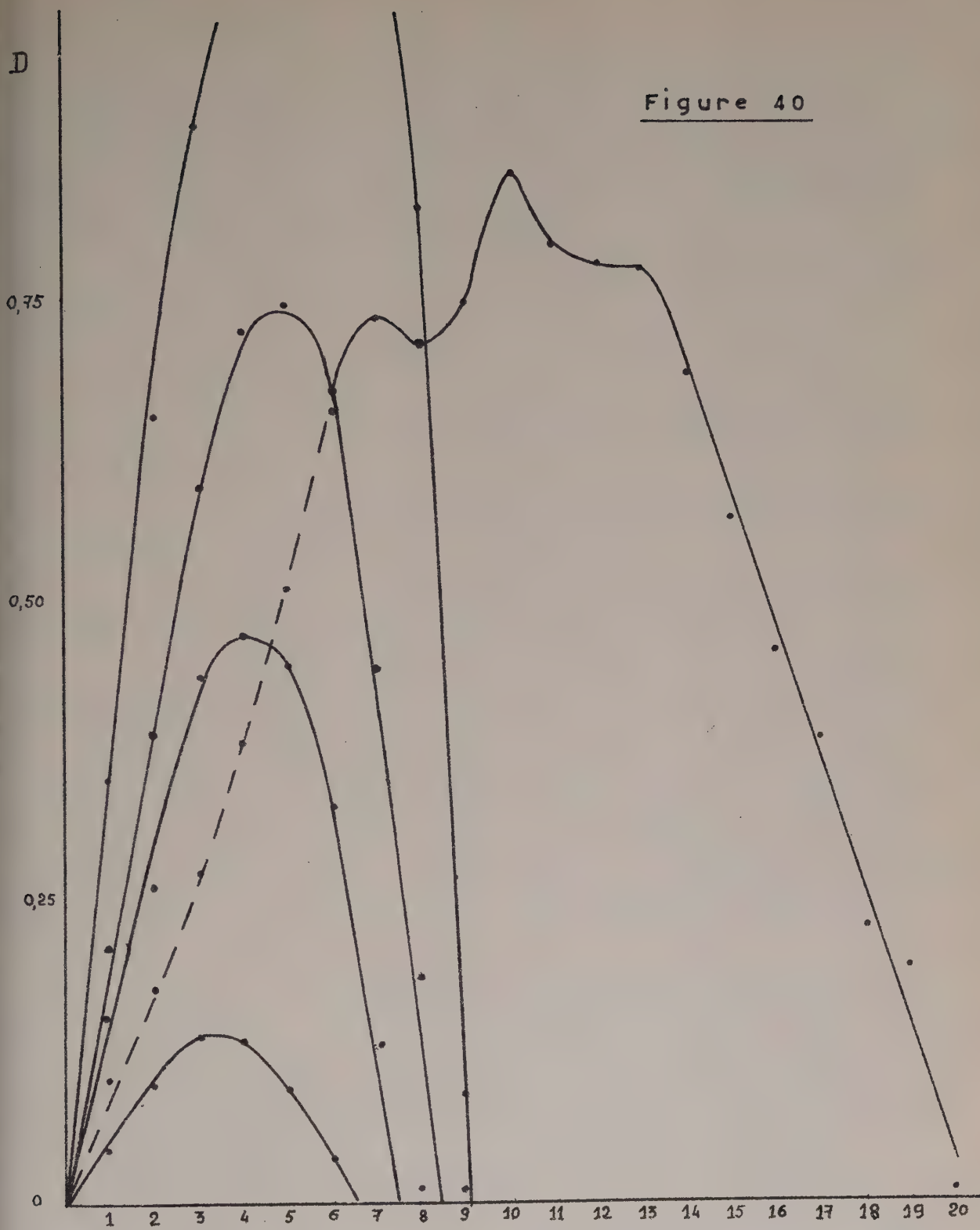
Purification du solvant

Le chloroforme R.P. contient environ 0,5 % d'éthanol, afin d'empêcher la formation de phosgène et d'acide chlorhydrique. Pour éliminer cet alcool, nous avons agité par trois fois le chloroforme avec 5 % (v./v.) d'acide sulfurique concentré, nous l'avons ensuite lavé à l'eau à plusieurs reprises, séché sur chlorure de calcium anhydre, puis distillé, en rejetant la tête et la queue de distillation (46, p. 176). Nous avons collecté le chloroforme purifié dans un flacon Pyrex bouchant émeri, enveloppé de papier noir, que nous avons conservé au réfrigérateur. Malgré ces précautions le chloroforme dégageait au bout de quelques jours une odeur suffocante traduisant une altération. Aussi avons-nous effectué l'expérience avec du chloroforme purifié le jour même.

Résultats

Le tableau XXII et la figure 40 représentent les résultats obtenus, pour $n = 1/8 \cdot 10^{-3}$, $n = 1/6 \cdot 10^{-3}$, $n = 1/4 \cdot 10^{-3}$, $n = 10^{-3}$ comme dans le cas du benzène, la longueur d'onde d'absorption maximum du composé jaune peut varier avec les proportions d'alcaloïde et de colorant dans la solution lorsque celle-ci est relativement concentrée. Elle est constante (410 m μ) lorsque l'alcaloïde n'est plus en grand excès par rapport au colorant.

[illegible]



CHLOROFORME "PUR"

(Courbes des variations continues)

Nous avons tracé en traits pleins les portions de courbes de densités optiques du composé jaune correspondant au maximum d'absorption à $410 \text{ m}\mu$ et en tirets celles correspondant à des longueurs d'onde différentes.

Le maximum d'absorption du composé foncé se situe constamment à $585 \text{ m}\mu$.

Interprétation des résultats

Les courbes obtenues sont très différentes des courbes théoriques :

- celles qui correspondent au composé foncé coupent l'axe des abscisses pour $x < n/2$,

- celle qui représente la variation de densité optique du composé jaune présente trois maxima.

De toute évidence le chloroforme contient une impureté acide fort située à peu près au niveau de C_I sur l'échelle unique qui ne peut être que l'acide chlorhydrique ; nous avons d'ailleurs vérifié expérimentalement la présence de celui-ci en agitant dans une ampoule à décanter 100 ml de chloroforme purifié avec 2 ml d'eau ; la phase aqueuse séparée donne avec le nitrate d'argent un précipité ténu mais net.

Cependant, en présence d'une impureté acide de type 1 ou 2, la courbe devrait comporter deux maxima et non trois comme c'est le cas. L'apparition de ce troisième maximum ne peut s'expliquer que par la présence dans le solvant auprès de l'acide chlorhydrique d'une seconde impureté acide, de même type, mais de pK différent.

On peut construire les courbes théoriques des variations continues, modifiées par deux impuretés acides situées près de C_I sur l'échelle unique ; sur la figure 41, nous avons re-

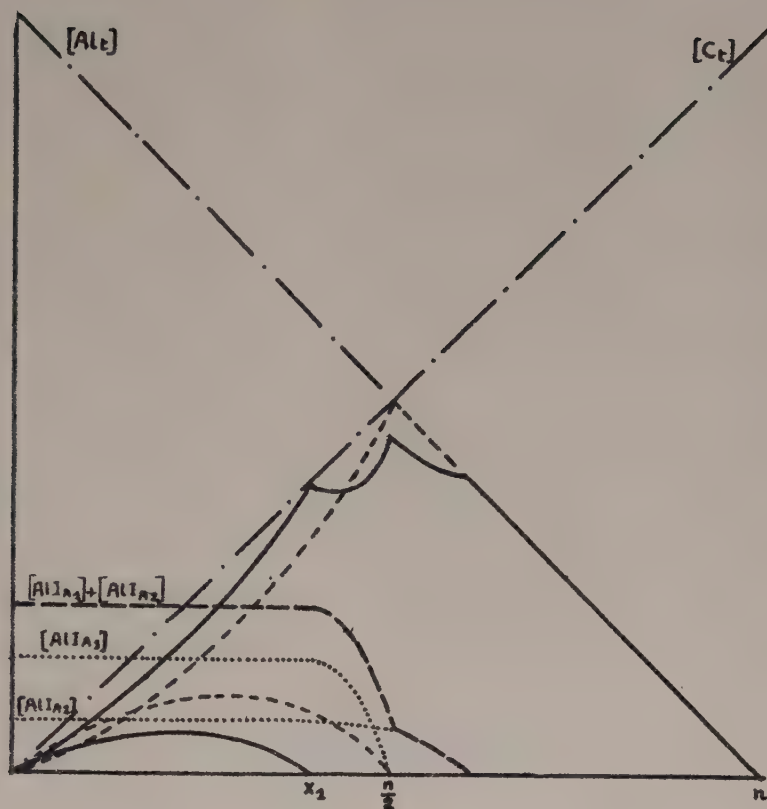


FIGURE 41

Influence de deux impuretés acides de type 2: I_{A_1} et I_{A_2}
 ($pK_{I_{A_2}} > pK_{I_{A_1}}$) sur les courbes des variations continues

— Concentrations totales en Al et C

Variations de (AlC) et (Al_2C) en fonction de x :

----- en l'absence d'impureté

— en présence des impuretés I_{A_1} et I_{A_2}

..... Variations de (AlI_{A_1}) et (AlI_{A_2}) en fonction de x

— Variations de $(AlI_{A_1}) + (AlI_{A_2})$ en fonction de x

présenté les courbes obtenues lorsque l'impureté la moins acide I_{A1} est en excès par rapport à la plus acide I_{A2} .

Ces courbes ont même aspect que les courbes expérimentales. Plusieurs expériences effectuées avec du chloroforme fraîchement purifié ont donné des courbes différant plus ou moins les unes des autres, mais comportant toujours trois maxima. Cette seconde impureté acide, un peu plus faible que l'acide chlorhydrique peut être la paire d'ions acide chlorhydrique - phosgène $O = C \begin{smallmatrix} \text{Cl} \\ \text{Cl} \end{smallmatrix} H^+ Cl^-$; le phosgène, base faible, abaisserait l'acidité de HCl .

La courbe expérimentale s'approche d'autant plus de celle obtenue dans le benzène (c'est-à-dire dans un solvant inerte sans impureté) que la dessiccation a été plus longue. La décomposition du chloroforme, en présence de traces d'eau s'effectue suivant la réaction :



ce qui peut expliquer l'excès de HCl par rapport au phosgène et la présence simultanée d'acide chlorhydrique et de paire d'ions acide chlorhydrique-phosgène.

Nos expériences ayant été effectuées à l'air libre, le chloroforme peut aussi être oxydé suivant la réaction :



Si les considérations précédentes sont exactes, l'examen de la courbe des variations continues permet d'estimer dans le chloroforme les proportions approximatives de phosgène et d'acide chlorhydrique libre.

Nous pouvons par ailleurs calculer la concentration en acide total à l'aide de la formule (59) applicable au point x_1

$$(I_{At}) = (A1_t) - x_1$$

$$(I_{At}) = n - 2x_1$$

Pour $n = 10^{-4}$, $x_1 = 0,33.10^{-4}$. Donc :

$$(I_{At}) = 10^{-4} - 0,66.10^{-4} = 0,33.10^{-4}$$

soit une concentration de 1,2 mg d'acide chlorhydrique total par litre de chloroforme. La méthode est donc suffisamment sensible pour doser des traces d'impuretés dans un solvant.

En raison des difficultés de purification et de conservations du chloroforme, nous avons étudié les possibilités de dosage dans le chloroforme du commerce contenant 0,5 % d'éthanol et exempt d'acide chlorhydrique.

4 - Chloroforme R.P.

Solvant

Nous avons utilisé du chloroforme R.P. contenant approximativement 0,5 % d'éthanol, exempt d'eau, d'acide chlorhydrique et de phosgène. Il renferme des traces de tétrachlorure de carbone, qui ne peuvent être gênantes puisqu'il s'agit d'un solvant inerte. Nous avons vérifié l'absence d'aldéhydes à l'aide du réactif de NESSLER et d'acétone par la réaction de ROTHERA.

Résultats

La longueur d'onde du maximum d'absorption du composé jaune est restée constante et égale à 415 mμ . Celle du composé foncé est égale à 585 mμ . Les résultats sont représentés sur le tableau XXIII et la figure 42.

Interprétation des résultats

La disparition du composé foncé s'effectue pour $x = n/2$. Le dosage volumétrique est donc possible dans le chloroforme R.P. du commerce.

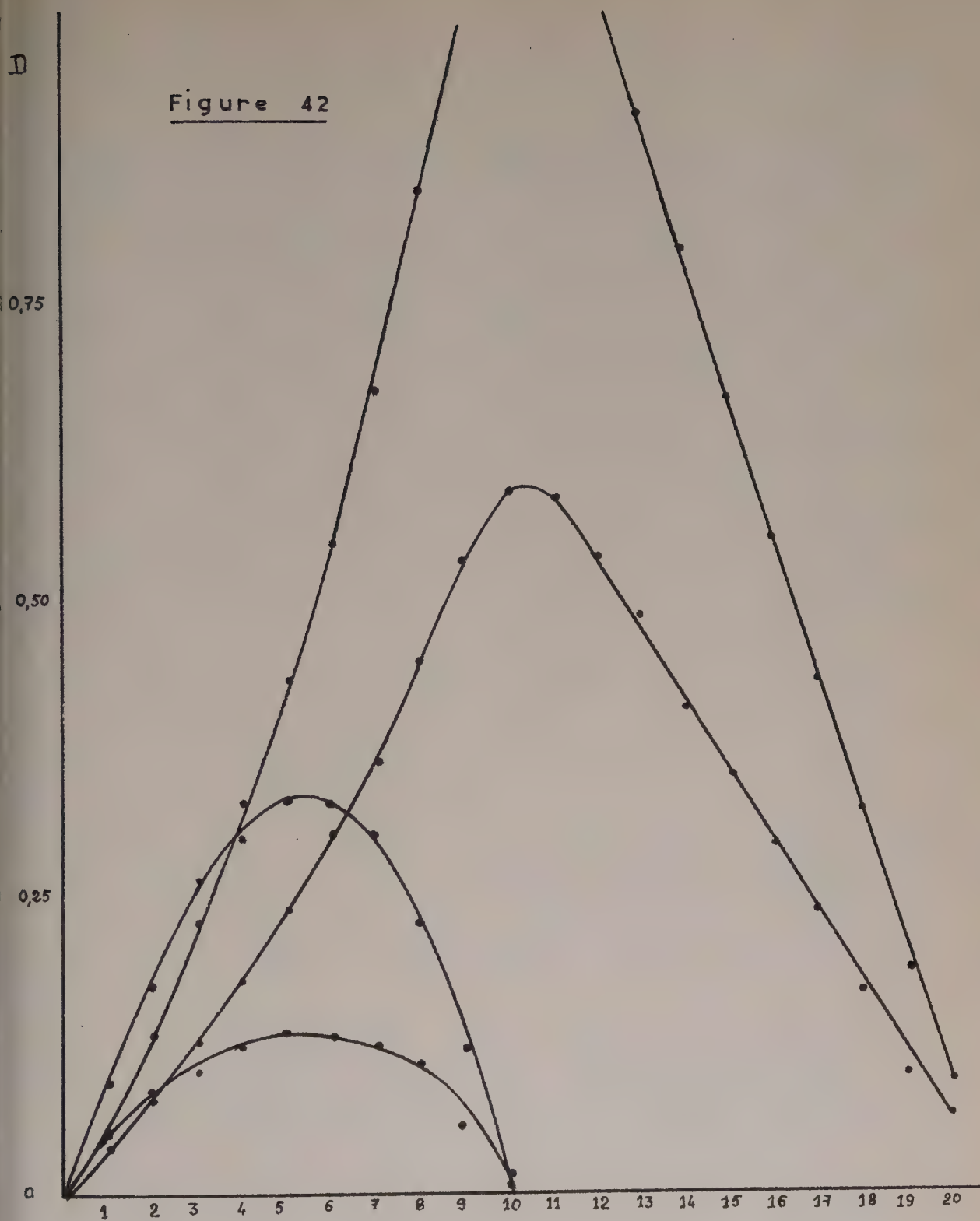
La longueur d'onde d'absorption maxima du composé jaune est beaucoup plus stable que dans le benzène ou le chloroforme pur sans alcool ; aux concentrations étudiées elle reste égale à 415 m μ ; la présence d'éthanol augmente donc le rapport limite d'apparition des agrégats d'ions ; d'autre part la constante diélectrique est pratiquement inchangée et la dissociation ionique de AlC est négligeable ; les composés AlC et Al₂C sont donc les seuls en présence dans ce cas et l'étude des équilibres entre AlC et Al₂C est toujours possible alors qu'elle est limitée dans le benzène ; c'est dans le chloroforme R.P. que nous avons effectué la plupart de nos déterminations quantitatives.

La droite descendante qui représente les variations de D_{AlC} pour $x > n/2$ ne coupe pas l'axe des abscisses au point $x = n$; ainsi $D_{AlC} = 0,036$ pour $x = n$ lorsque $n = 0,5 \cdot 10^{-4}$. Il semble que le chloroforme RP contienne un peu d'impureté basique de type 3, ou qu'il se comporte comme un solvant basique à cause de l'éthanol qu'il contient.

La longueur d'onde d'absorption maxima du composé foncé n'est plus 565 mais 585 m μ (la solution est violette et non pas rougeâtre comme dans le benzène) ; le maximum de la courbe représentative de D_{Al_2C} est nettement plus bas que dans le cas du benzène, ce qui peut être imputé à une différence d' ϵ_{Al_2C} entre les deux composés foncés ; il se forme cependant moins de Al₂C dans le chloroforme que dans le benzène la valeur de D_{AlC} est en effet plus élevée dans le premier

		$n = 0,5 \cdot 10^{-4}$				$n = 10^{-4}$			
Numéro du tube	Composé jaune		Composé foncé		Composé jaune		Composé foncé		
	$\lambda_{\max}$	Dopt.	$\lambda_{\max}$	Dopt.	$\lambda_{\max}$	Dopt.	$\lambda_{\max}$	Dopt.	
1	415 m μ	0,042	585 m μ	0,054	415 m μ	0,056	585 m μ	0,096	
2		0,080		0,084		0,133		0,174	
3		0,128		0,102		0,230		0,264	
4		0,178		0,125		0,332		0,300	
5		0,250		0,134		0,433		0,338	
6		0,306		0,128		0,552		0,332	
7		0,381		0,125		0,682		0,306	
8		0,452		0,108		0,852		0,228	
9		0,534		0,063		>1		0,142	
10		0,595		0,007		>1		0,012	
11		0,590		0,007		>1		0,011	
12		0,538				>1			
13		0,494				0,914			
14		0,412				0,799			
15		0,356				0,675			
16		0,297				0,555			
17		0,239				0,430			
18		0,170				0,325			
19		0,102				0,189			
20		0,036				0,096			

Figure 42



CHLOROFORME R.P.

(Courbes des variations continues)

solvant que dans le second, même en l'absence d'agrégats d'ions.

Applications pratiques

Le chloroforme R.P. ne modifie pas le terme du dosage volumétrique ; c'est un bon solvant des alcaloïdes et des colorants dérivés de la P.S.P. Dans la pratique, c'est ce solvant que nous avons utilisé le plus souvent. Par contre, sa faible basicité ou les traces d'impuretés basiques qu'il contient, peuvent entacher le dosage colorimétrique d'une erreur par excès ; il est alors nécessaire de retrancher de la densité optique mesurée celle d'une solution chloroformique de colorant de même titre, mais ne contenant pas d'alcaloïde.

II - Solvants peu dissociants actifs

1 - Ether éthylique

Purification du solvant

L'éther du commerce a été purifié par la méthode indiquée par VOGEL (46, p. 163) ; dessiccation pendant 48 heures sur chlorure de calcium anhydre, filtration, addition de sodium en minces copeaux, contact pendant 3 jours, enfin distillation.

Résultats

Les résultats sont reportés sur le tableau XXIV et la figure 43. Nous n'avons effectué nos expériences que pour $n = 0,5 \cdot 10^{-4}$, valeur au-dessus de laquelle le composé foncé précipite.

Le maximum d'absorption de AlC est situé à $410 m\mu$ et celui de Al_2C à $610 m\mu$; comme précédemment, nous avons porté en tirets la portion de courbe correspondant à un mélange de AlC et d'agrégats d'ions.

T A B L E A U XXIV

Ether éthylique

Numéro du tube	$n = 0,5 \cdot 10^{-4}$			
	Composé jaune		Composé foncé	
	λ_{max}	Dopt.	λ_{max}	Dopt.
1	385 mμ	0,038	610 mμ	0,020
2	-	0,070		0,130
3	390	0,130		0,197
4	-	0,180		0,270
5	395	0,232		0,315
6	400	0,288		0,316
7	-	0,378		0,273
8	-	0,470		0,191
9	-	0,545		0,094
10	-	0,602		0,002
11	410	0,554		
12		0,497		
13		0,432		
14		0,376		
15		0,316		
16		0,265		
17		0,202		
18		0,142		
19		0,094		
20		0,038		

D

Figure 43

0,75

0,50

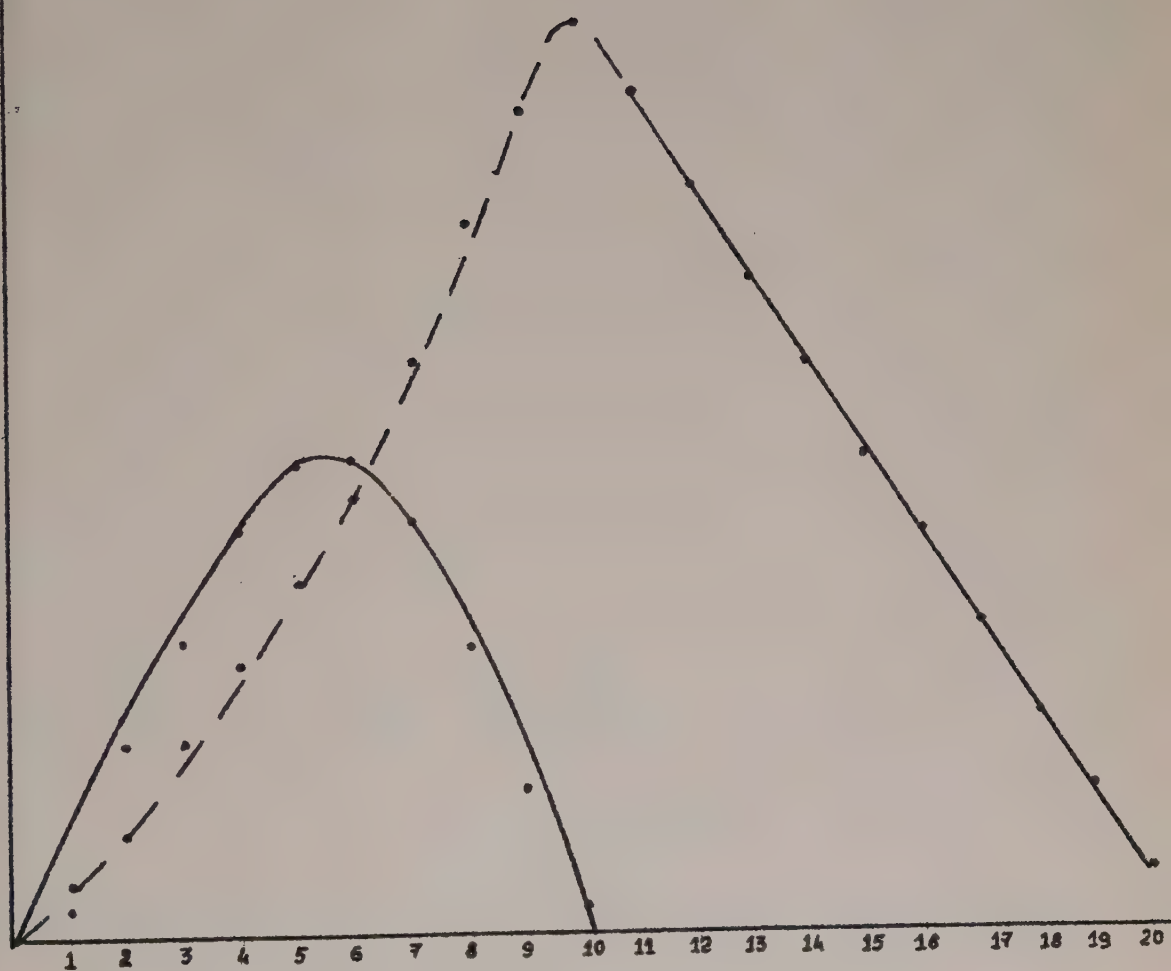
0,25

0

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

ETHER ETHYLIQUE

(Courbes des variations continues)



Interprétation des résultats

Les courbes obtenues rappellent celles du benzène et du chlorobenzène, dont elles diffèrent par deux points :

- le maximum d'absorption du composé foncé est déporté vers l'infra-rouge ($610 \text{ m}\mu$) ; le coefficient d'absorption molaire de ce composé est nettement plus élevé dans l'éther.

- le tube n° 20 présente encore une certaine absorption à $410 \text{ m}\mu$ correspondant à la présence d'une petite quantité de composé SC ; l'éther éthylique est donc un solvant très faiblement basique de type 1 ; la relation (75) permet de calculer la valeur de K_{Sb_1} :

$$K_{\text{Sb}_1} = \frac{(C_t) - (\text{SC})}{(\text{SC})}$$

or :

$$(C_t) = 0,5 \cdot 10^{-4}$$

et :

$$(\text{SC}) = \frac{0,038}{2,44 \cdot 10^4} = 1,55 \cdot 10^{-6}$$

$$K_{\text{Sb}_1} \approx 0,33 \cdot 10^2$$

$$pK_{\text{Sb}_1} \approx -1,5$$

Applications pratiques

L'éther éthylique doit donc permettre les dosages volumétrique et colorimétrique, en appliquant à ce dernier une légère correction attachée à la basicité du solvant. En pratique il est difficilement utilisable car le composé foncé Al_2C y est peu soluble, comme dans tous les solvants à très faible constante diélectrique ; de plus c'est un solvant très volatil et difficile à manipuler à des fins quantitatives.

2 - Tétrahydrofuranne

Purification du solvant

Le produit du commerce a été purifié comme l'éther éthylique.

Résultats

Ils sont portés sur le tableau XXV et la figure 44 pour $n = 0,50 \cdot 10^{-4}$ et $n = 0,25 \cdot 10^{-3}$. Les maxima d'absorption sont constamment situés à 410 et 560 m μ .

Interprétation des résultats

Les courbes correspondant à $n = 0,25 \cdot 10^{-3}$ présentent deux caractères nouveaux par rapport à celles obtenues dans les solvants précédemment étudiés :

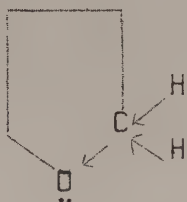
a) La courbe représentant la variation de $D_{\text{Al}_2\text{C}}$ est très aplatie alors que celle correspondant à D_{AlC} est presque rectiligne.

D'après nos études théoriques nous pouvons en conclure :

- soit que le tétrahydrofuranne est un solvant acide de type 3 ;

- soit qu'il contient une impureté acide de type 4 ; cette éventualité peut difficilement être mise en cause, le solvant ayant été distillé sur sodium immédiatement avant usage.

Le tétrahydrofuranne se comporte donc comme un acide faible ; cette légère acidité peut s'expliquer par l'effet inducteur de l'atome d'oxygène cyclique sur le groupement méthylène situé en α .



Le pK_{Sa} approximatif du tétrahydrofuranne peut être déterminé à partir de la relation (66) :

$$pK_{Sa} = pK_2 - pK'_2$$

Nous montrerons dans le chapitre V que le pK_2 de l'atropine par rapport au bleu de bromophénol est égal à 4,04.

K'_2 peut alors être calculé à l'aide de la relation (34)

$$K'_2 = \frac{(AlC) (n - 3x + (AlC))}{x - (AlC)}$$

appliquée aux valeurs de (AlC) correspondant à $n = 10^{-4}$; pour des valeurs inférieures de n , la différence entre x et (AlC) serait très faible et l'erreur relative sur $x - (AlC)$ très élevée ; pour des valeurs supérieures de n , il peut se former des agrégats d'ions.

Expérimentalement nous avons trouvé :

$$K'_2 = 0,55 \cdot 10^{-3}$$

$$pK'_2 = 3,25$$

$$pK_{Sa} = 4,04 - 3,25 \approx 0,8$$

b) La courbe descendante représentative de D_{AlC} pour $x > n/2$ n'est plus une droite ; son aspect semble révéler, d'une part une légère basicité du solvant, d'autre part la présence d'une impureté basique de type 2. Nous avons évalué la valeur de pK_{Sb_1} en utilisant la méthode des concentrations croissantes en colorant (chapitre III, p.101). Les résultats sont donnés sur le tableau XXVI et la figure 45 ; nous avons trouvé pour K_{Sb_1} une valeur voisine de 10^2 ; par suite :

$$pK_{Sb_1} \approx -2$$

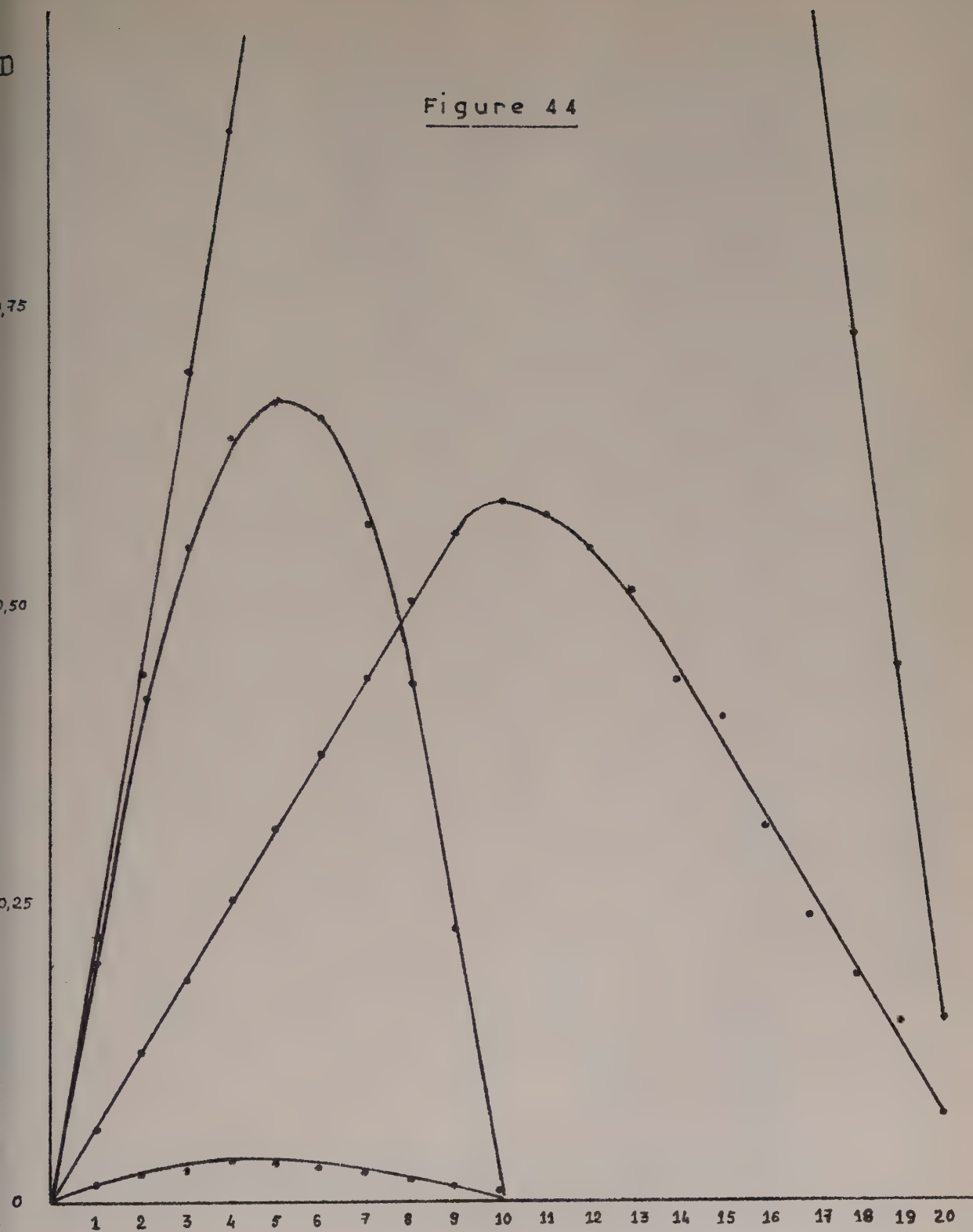
La basicité du tétrahydrofuranne est donc légèrement inférieure à celle de l'éther.

Applications pratiques

Le tétrahydrofuranne est un excellent solvant de nombreux alcaloïdes et du bleu de bromophénol ; le dosage volumétrique y est possible, mais sa sensibilité est diminuée par l'acidité du solvant. Pour le dosage colorimétrique il faut tenir compte de la basicité du solvant et de la présence éventuelle d'impuretés basiques. Pratiquement on retranche de la densité optique obtenue celle d'une solution de bleu de bromophénol de même concentration dans le même solvant.

Numéro du tube	Composé jaune		Composé foncé		Composé jaune		Composé foncé	
	$\lambda_{\max}$	Dopt.	$\lambda_{\max}$	Dopt.	$\lambda_{\max}$	Dopt.	$\lambda_{\max}$	Dopt.
1	410 m μ	0,060	560 m μ	0,012	410 m μ	0,202	560 m μ	0,223
2		0,126		0,022		0,442		0,426
3		0,186		0,026		0,698		0,554
4		0,254		0,036		> 1		0,642
5		0,312		0,032		-		0,672
6		0,375		0,030		-		0,660
7		0,440		0,025		-		0,570
8		0,508		0,018		-		0,434
9		0,562		0,014		-		0,228
10		0,590		0,010		-		0,010
11		0,580		0,010		-		0,010
12		0,550		0,009		-		
13		0,516				-		
14		0,441				-		
15		0,410				-		
16		0,314				-		
17		0,242				-		
18		0,190				0,732		
19		0,154				0,452		
20		0,072				0,155		

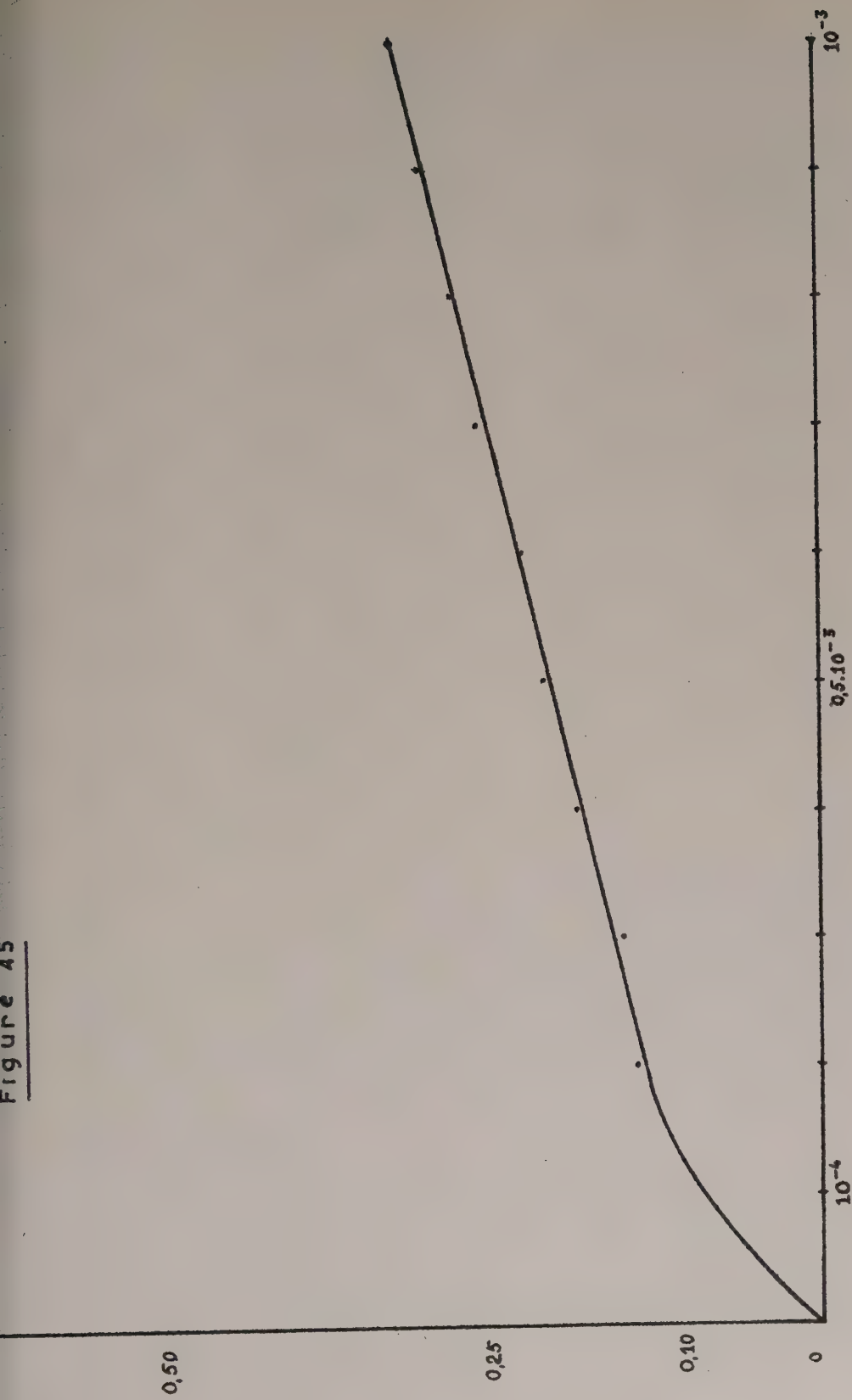
Figure 44



TETRAHYDROFURANNE

(Courbes des variations continues)

Figure 45



TETRAHYDROFURANNE

(... .. coefficients of RPP)

T A B L E A U XXVI

Concentration en bleu de	Densité optique
bromophénol	à 410 mμ
-----	-----
10^{-4} M	0,096
$0,2 \cdot 10^{-3}$ M	0,142
0,3 "	0,152
0,4 "	0,188
0,5 "	0,215
0,6 "	0,230
0,7 "	0,265
0,8 "	0,285
0,9 "	0,310
10^{-3} M	0,330

3 - Dioxanne

Purification du solvant

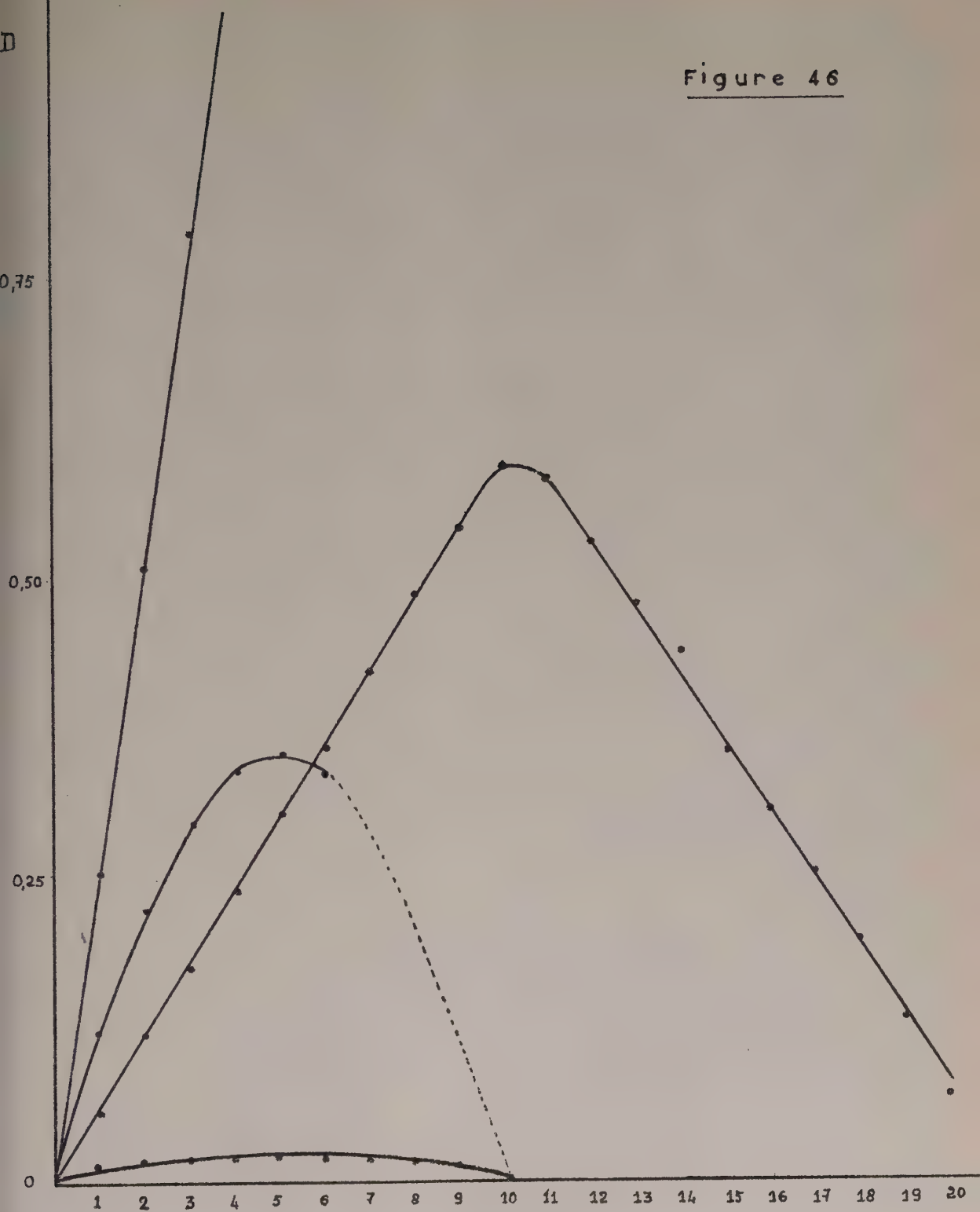
Le dioxanne du commerce a été purifié d'après VOGEL (46, p. 177) : dessiccation pendant 3 jours sur chlorure de calcium anhydre, ébullition pendant 76 heures avec des copeaux de sodium, filtration sur laine de verre pour éliminer les résines, enfin distillation sur sodium à deux reprises. Le solvant obtenu est incolore et limpide.

Résultats

Ils sont donnés sur le tableau XXVII et la figure 46, pour $n = 0,5 \cdot 10^{-4}$ et $n = 0,25 \cdot 10^{-3}$; pour cette dernière valeur de n, l'étude n'a porté que sur les 6 premiers tubes, le solvant nous ayant manqué par suite du mauvais rendement du procédé de purification.

Numéro du tube	$n = 0,5 \cdot 10^{-4}$				$n = 0,25 \cdot 10^{-3}$			
	Composé jaune		Composé foncé		Composé jaune		Composé foncé	
	$\lambda_{\max}$	Dopt.	$\lambda_{\max}$	Dopt.	$\lambda_{\max}$	Dopt.	$\lambda_{\max}$	Dopt.
1	410 m μ	0,058	565 m μ	0,014	410 m μ	0,260	565 m μ	0,126
2		0,125		0,018		0,514		0,230
3		0,180		0,020		0,796		0,300
4		0,246		0,022		>1		0,347
5		0,310		0,024		—		0,361
6		0,365		0,021		—		0,345
7		0,430		0,019				
8		0,492		0,018				
9		0,548		0,016				
10		0,600		0,008				
11		0,590		0,007				
12		0,537						
13		0,486						
14		0,444						
15		0,360						
16		0,314						
17		0,258						
18		0,202						
19		0,136						
20		0,070						

Figure 46



DIOXANNE

(Courbes des variations continues)

Les renseignements obtenus nous ont paru suffisants pour l'étude du solvant, et nous n'avons pas jugé nécessaire de terminer la courbe sur le plan expérimental. Nous l'avons complétée en pointillés sur la figure.

Les longueurs d'onde d'absorption maximum sont 410 et 565 mμ .

Interprétation des résultats

Comme le tétrahydrofuranne, le dioxanne se comporte comme un solvant légèrement acide et légèrement basique.

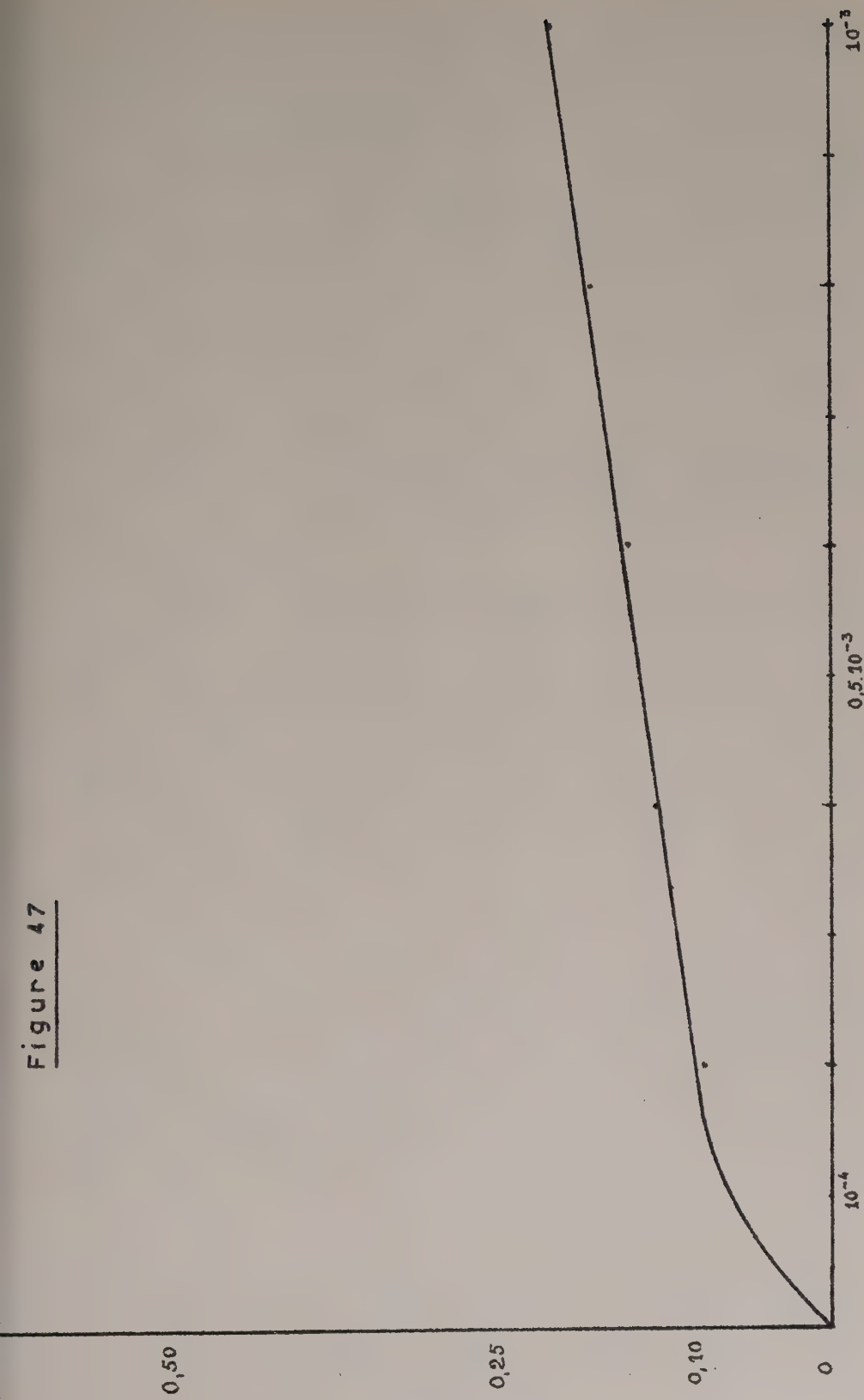
A l'examen des courbes il apparaît un peu plus acide que le tétrahydrofuranne. La valeur de pK_{Sa} déduite de la courbe pour $n = 0,25 \cdot 10^{-3}$ est 1,1.

Le dioxanne est aussi légèrement basique. Pour éliminer l'influence de l'impureté basique de type 3 dont la présence apparaît sur la partie descendante de la courbe D_{AIC} , nous avons construit la courbe de concentrations croissantes en bleu de bromophénol comme dans le cas du tétrahydrofuranne ; les résultats sont groupés sur le tableau XXVIII et la figure 47.

T A B L E A U XXVIII

: Concentration en bleu de :	: Densité optique :
: bromophénol :	: à 410 mμ :
: ----- :	: ----- :
: $1/5 \cdot 10^{-3} M$:	: 0,096 :
: 2/5. " :	: 0,132 :
: 3/5. " :	: 0,152 :
: 4/5. " :	: 0,182 :
: $10^{-3} M$:	: 0,214 :
: ----- :	: ----- :

Figure 47



DIOXANNE

La valeur de pK_{Sb_1} est - 2,1, donc voisine de celle du tétrahydrofuranne.

Applications pratiques

Elles sont les mêmes que celles du tétrahydrofuranne, mais le dosage volumétrique perd de sa sensibilité du fait d'une acidité plus forte du dioxanne.

4 - Méthylal

Purification du solvant

Nous avons utilisé la même technique que pour l'éther éthylique, d'après BOURGOM (50, p. 375).

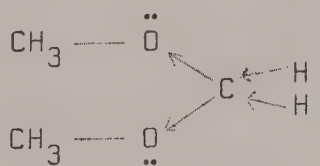
Résultats

Les résultats sont donnés sur le tableau XXIX et la figure 48.

La longueur d'onde d'absorption maximum du produit jaune est fixe et égale à 405 mμ . Celle du composé foncé est 560 mμ . La coloration rouge n'est sensible qu'à partir de $n = 10^{-4}$; nous avons donc effectué notre étude pour $n = 10^{-4}$ et $n = 0,25.10^{-3}$.

Interprétation des résultats

Le méthylal est un acide faible de type 3 ; cette acidité peut s'expliquer par l'effet inducteur conjugué des deux groupements méthoxy qui, attirant le doublet électronique de liaison entre le carbone initial et les atomes d'hydrogène, leur confère une certaine acidité :



On peut calculer la valeur de pK_{Sa} comme dans le cas du tétrahydrofuranne. On trouve :

$$pK_{Sa} \approx 0,7$$

Aux erreurs d'expérience près, on peut considérer que la limitation par l'acidité du méthylal est située pratiquement à même hauteur sur l'échelle unique que celle du tétrahydrofuranne.

Le méthylal est aussi une base faible, dont nous avons déterminé la zone de limitation sur l'échelle unique comme dans le cas du tétrahydrofuranne, par la méthode des concentrations croissantes en B.B.P. Nous représentons sur le tableau XXX et la figure 49 les résultats obtenus.

T A B L E A U XXX

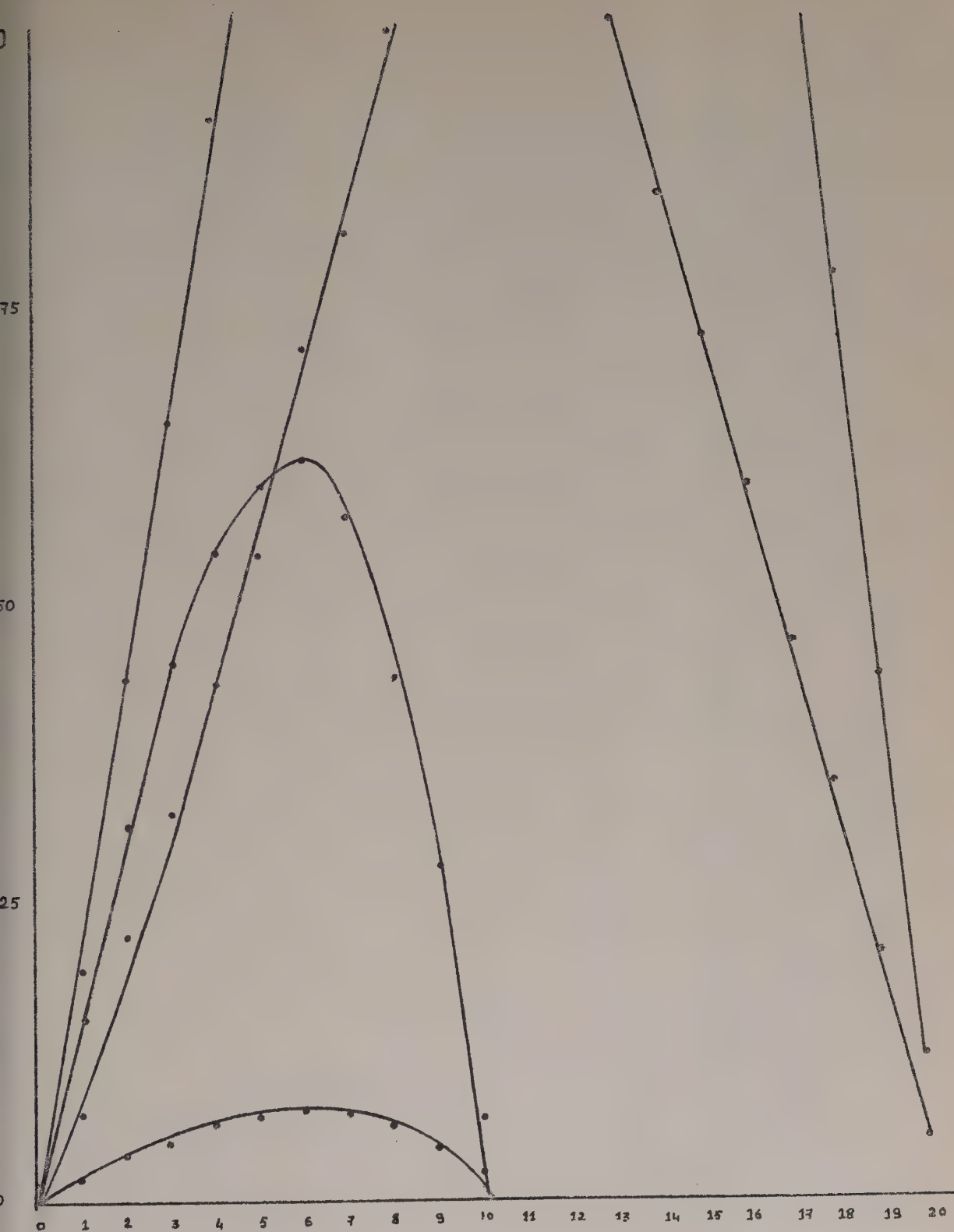
: Concentration en bleu de :	: Densité optique :
: bromophénol :	: à 405 mμ :
: ----- :	: ----- :
: 0,2.10 ⁻³ M :	: 0,062 :
: 0,4 " :	: 0,096 :
: 0,6 " :	: 0,124 :
: 0,8 " :	: 0,158 :
: 10 ⁻³ M :	: 0,194 :
: ----- :	: ----- :

Ces résultats permettent de calculer le pK_{Sb_1} du méthylal

$$pK_{Sb_1} \approx -2,2$$

La basicité du méthylal est donc du même ordre que celles du tétrahydrofuranne et du dioxanne.

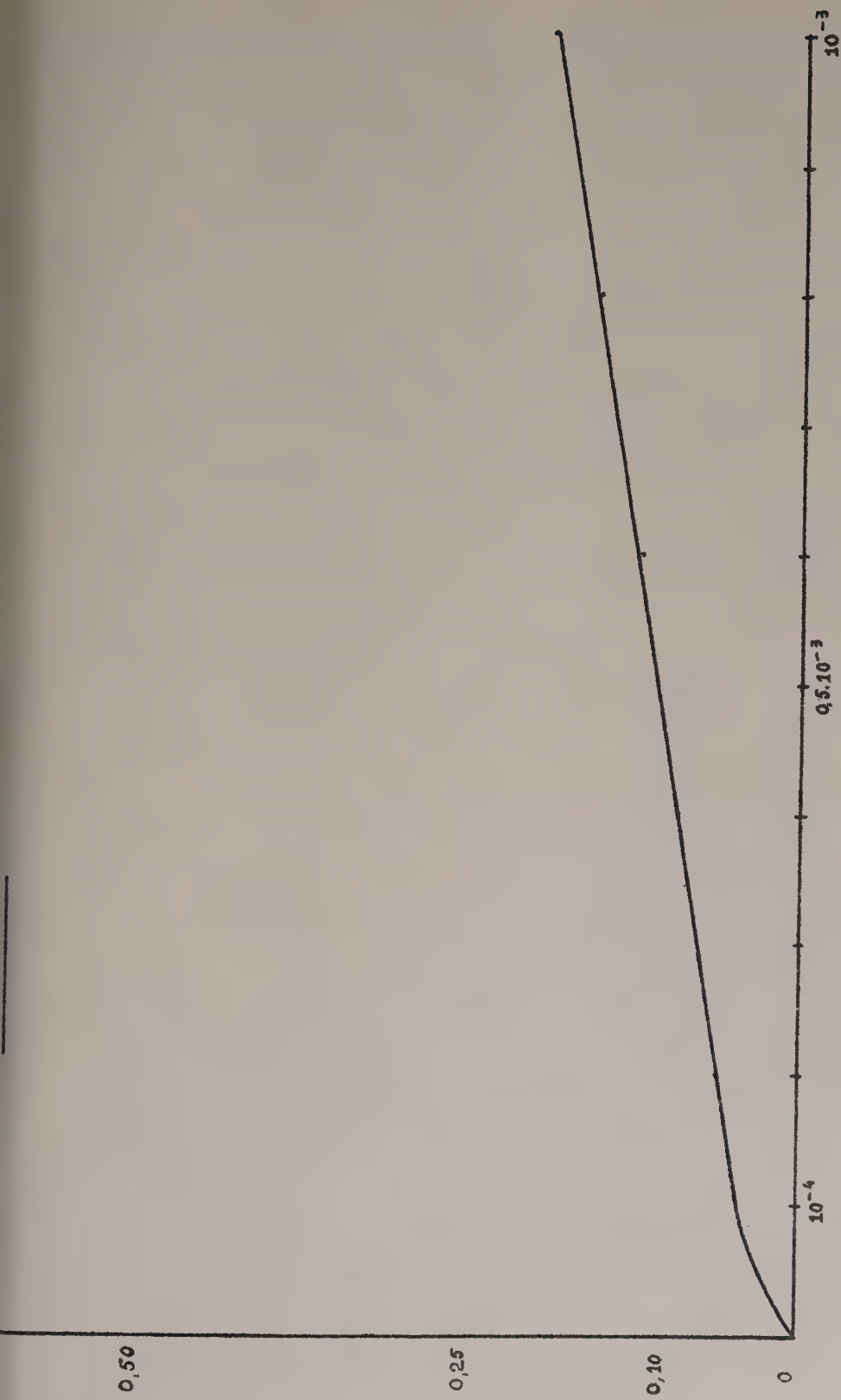
Numéro du tube	$n = 10^{-4}$				$n = 0,25 \cdot 10^{-3}$			
	$\lambda_{\max}$	Composé jaune	Composé foncé	Composé foncé	$\lambda_{\max}$	Composé jaune	Composé foncé	Composé foncé
		Dopt.	$\lambda_{\max}$	Dopt.		Dopt.	$\lambda_{\max}$	Dopt.
1	405 m μ	0,072	560 m μ	0,018	405 m μ	0,196	560 m μ	0,156
2		0,224		0,040		0,440		0,318
3		0,326		0,050		0,658		0,456
4		0,438		0,068		0,912		0,550
5		0,546		0,072		>1		0,602
6		0,720		0,080		-		0,625
7		0,816		0,072		-		0,580
8		0,990		0,066		-		0,440
9		>1		0,046		-		0,282
10		>1		0,024		-		0,070
11		>1		0,018		-		0,022
12		>1		0,016		-		0,020
13		0,998		0,015		-		0,019
14		0,850				-		
15		0,734				-		
16		0,603				-		
17		0,472				-		
18		0,352				-		
19		0,210				0,782		
20		0,055				0,444		
						0,118		



METHYLAL

(Courbes des variations continues)

METHYLAL



Applications pratiques

Elles sont les mêmes que celles du tétrahydrofuranne et du dioxanne. Nous insisterons cependant sur la grande solubilité des alcaloïdes et des colorants dans le méthylal.

5 - Acétate d'éthyle

Purification du solvant

L'acétate d'éthyle du commerce contient comme impuretés principales de l'eau, de l'éthanol et de l'acide acétique.

Nous avons utilisé deux modes de purification :

- dessiccation sur mélange de chlorure de calcium et de carbonate de potassium anhydre pendant 4 jours, suivie d'une distillation ;

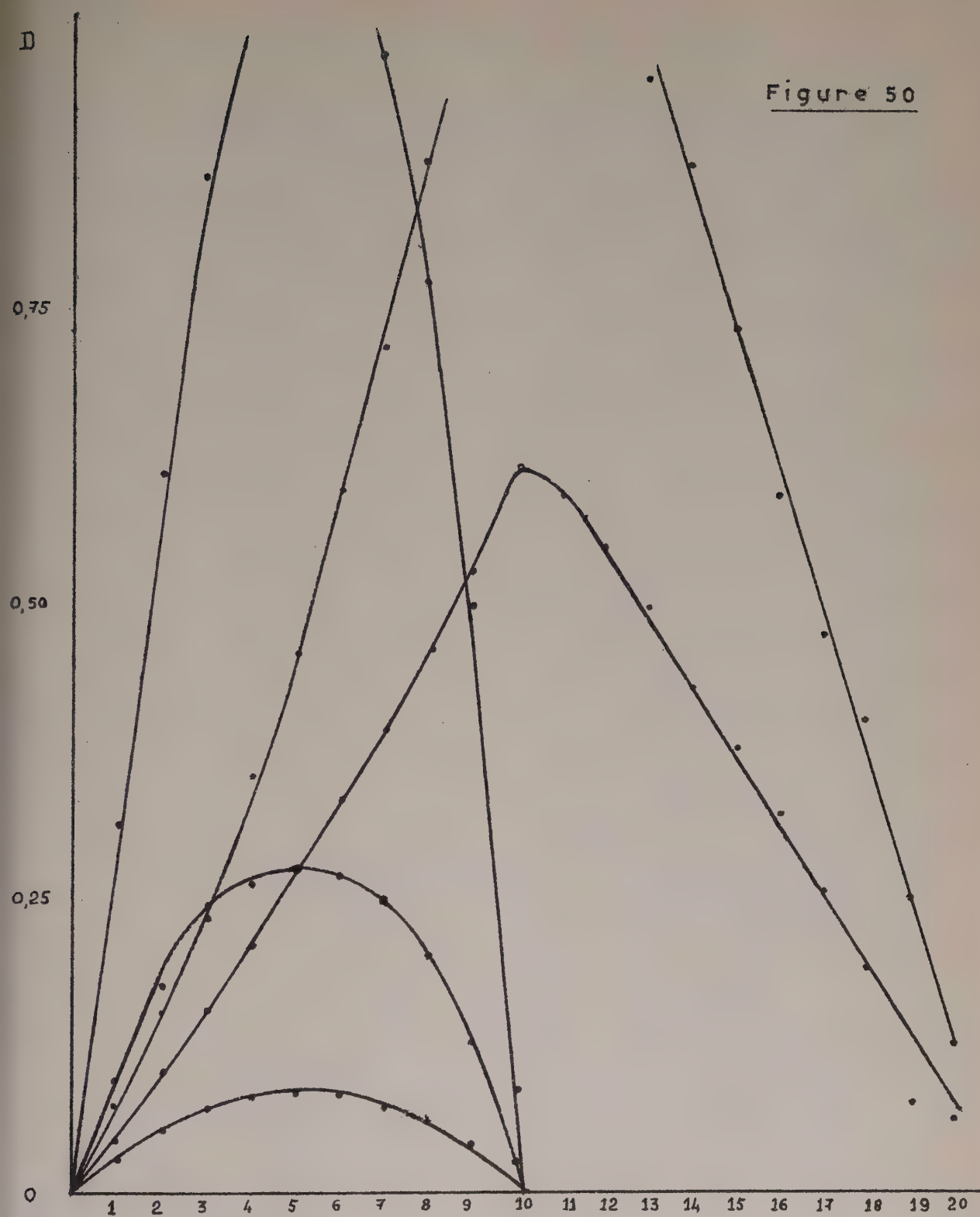
- méthode préconisée par VOGEL (46, p. 174) : chauffage pendant 4 heures d'1 l d'acétate d'éthyle avec 100 ml d'anhydride acétique et 10 gouttes d'acide sulfurique, distillation, neutralisation du distillat par du carbonate de potassium anhydre, filtration et redistillation.

L'acétate d'éthyle purifié par la seconde méthode est un peu plus pur que celui obtenu par la première, mais il contient encore des impuretés basiques ; nous l'avons employé pour déterminer la basicité de ce solvant. Pour les courbes de variations continues, nous nous sommes contentés de la première méthode de purification.

Résultats

Nous avons indiqué sur le tableau XXXI et la figure 50 les résultats obtenus pour $n = 0,5 \cdot 10^{-4}$, $n = 10^{-4}$ et $n = 0,25 \cdot 10^{-3}$; les longueurs d'onde d'absorption maximum sont constantes: 405 et 560 m μ .

Numéro du tube	n = 0,50.10 ⁻⁴			n = 10 ⁻⁴			n = 0,25.10 ⁻³		
	Composé jaune : Composé foncé :			Composé jaune : Composé foncé :			Composé foncé :		
	λ max : Dopt. :	λ max :	Dopt. :	λ max : Dopt. :	λ max :	Dopt. :	λ max : Dopt. :	λ max :	Dopt. :
1	400 mμ	0,044	0,030	400 mμ	0,072	0,100	560 mμ	0,312	
2		0,102	0,056		0,154	0,174		0,612	
3		0,154	0,074		0,242	0,237		0,864	
4		0,210	0,084		0,354	0,263		>1	
5		0,272	0,086		0,460	0,276		>1	
6		0,334	0,086		0,598	0,272		>1	
7		0,394	0,074		0,722	0,250		>1	
8		0,464	0,066		0,880	0,204		0,775	
9		0,530	0,042		0,050	0,130		0,500	
10		0,622	0,026		>1	0,040		0,088	
11		0,595	0,016		>1	0,008		0,008	
12		0,550			>1				
13		0,501			0,954				
14		0,432			0,883				
15		0,378			0,742				
16		0,324			0,596				
17		0,257			0,474				
18		0,190			0,402				
19		0,072			0,248				
20		0,064			0,126				



ACETATE d'ETHYLE

(Courbes des variations continues)

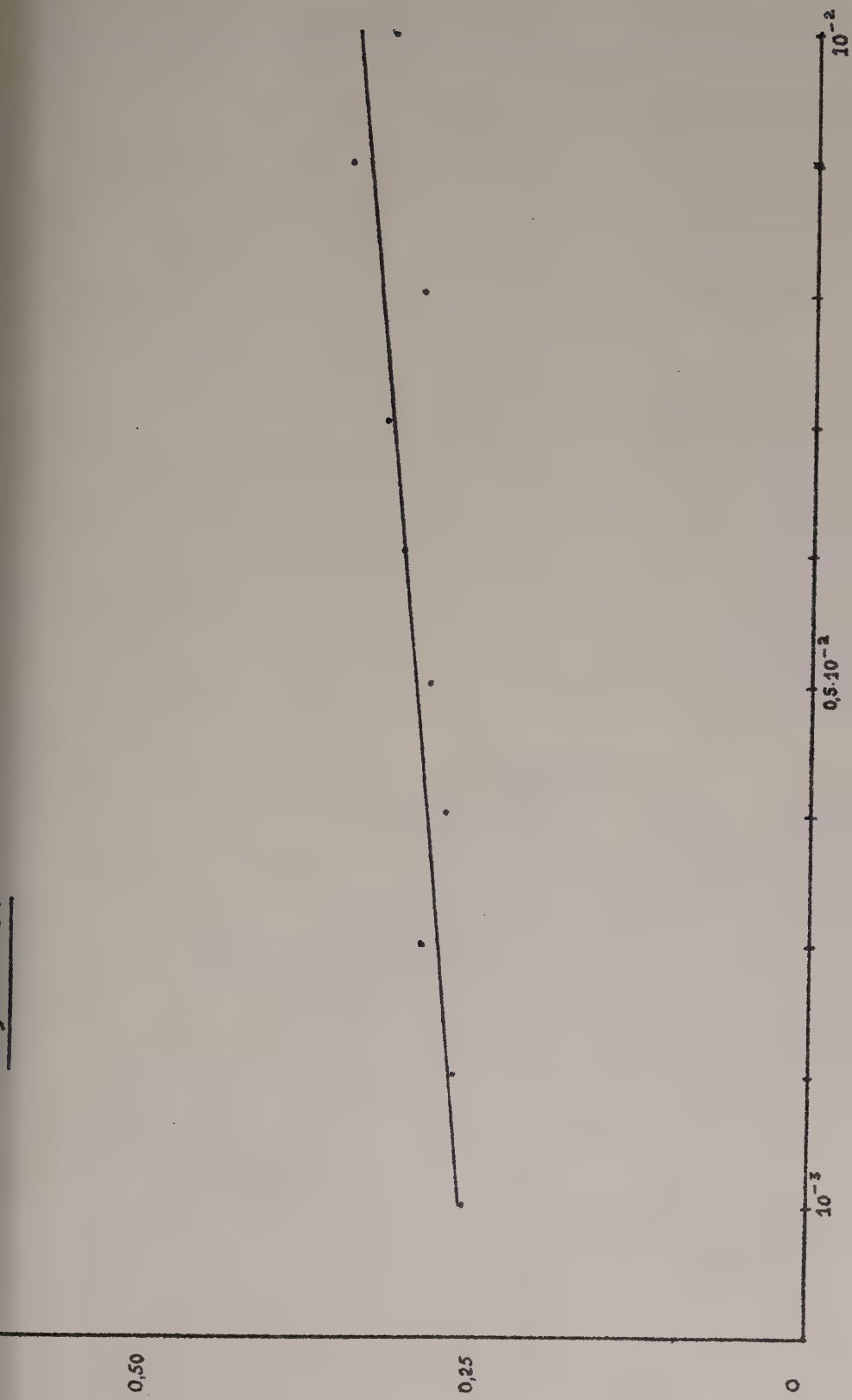
Interprétation des résultats

Le maximum des courbes correspondant au composé foncé est plus élevé que celui des trois solvants précédents, mais il est légèrement plus bas que ceux du benzène, du chloroforme et de l'éther. On peut en conclure, soit que l'acétate d'éthyle employé contenait des traces d'acide acétique (impureté acide du type 3 ou 4), soit que c'est un solvant très légèrement acide, dont la limitation se situerait à 0,15 unités pK au-dessus de l'atropine sur l'échelle unique.

L'acétate d'éthyle semble aussi légèrement basique. La présence d'impuretés basiques dues à l'insuffisance de la méthode de purification nous a obligés à effectuer l'expérience des concentrations croissantes sur des solutions de bleu de bromophénol plus concentrées que dans le cas des éthers cycliques et du méthylal afin d'obtenir la neutralisation complète de ces impuretés. Les résultats obtenus sont indiqués sur le tableau XXXII et la figure 51.

T A B L E A U XXXII

Concentration en bleu de bromophénol	Densité optique à 405 mμ
$10^{-3}M$	0,262
$0,2 \cdot 10^{-2}M$	0,270
0,3 "	0,292
0,4 "	0,278
0,5 "	0,290
0,6 "	0,312
0,7 "	0,326
0,8 "	0,298
0,9 "	0,356
$10^{-2}M$	0,322



ACETATE d'ETHYLE

(Courbe des concentrations croissantes en B.B.P.)

Ces résultats sont peu satisfaisants, les écarts attachés aux erreurs d'expérience recouvrant et dépassant parfois ceux dus à la basicité du solvant. En traçant une courbe moyenne, on trouve pour l'acétate d'éthyle une limitation située à 3,5 unités pK environ au-dessus de la 1ère acidité du B.B.P., c'est-à-dire nettement plus haut que dans le cas des solvants basiques précédents.

Applications pratiques

L'acétate d'éthyle, bon solvant des alcaloïdes et du B.B.P., peut être utilisé comme solvant pour les deux types de dosage. Son acidité et sa basicité, s'ils existent, sont assez faibles pour qu'on puisse le rapprocher des solvants inertes. Il est nécessaire cependant au cours d'un dosage colorimétrique d'effectuer une mesure de densité optique sur la solution de B.B.P. en l'absence d'alcaloïde, afin de soustraire du résultat l'absorption due aux impuretés du solvant.

6 - Salicylate de méthyle

Ce solvant ne semblait pas à priori offrir un grand intérêt pratique ; nous en avons cependant effectué l'étude parce qu'il présentait une acidité assez forte ($pK_{A H_2O} = 10,2$).

Purification du solvant

Le salicylate de méthyle du commerce a été desséché pendant 5 jours sur chlorure de calcium anhydre, puis distillé sous vide à deux reprises.

Résultats

Les longueurs d'onde d'absorption maximum sont 415 et 585 mμ . Le tableau XXXIII et la figure 52 indiquent les résultats obtenus pour $n = 0,5 \cdot 10^{-4}$, concentration à laquelle le composé jaune est seul à apparaître, et $n = 10^{-3}$; à cette concentration le composé jaune est trop concentré pour per-

mettre la mesure de D_{415} , et nous n'avons mesuré que D_{585} ; du fait de sa grande concentration, le composé jaune présente encore une légère absorption à 585 m μ ; les tubes numérotés de 10 à 20 ont à cette longueur d'onde une densité optique de 0,07 environ, bien que le composé foncé ait disparu sur la figure 52, nous avons représenté en pointillés la courbe expérimentale D_{585} et en traits pleins la courbe D_{Al_2C} ; elle coupe l'axe des abscisses pour $x \approx n/2$.

Interprétation des résultats

Le salicylate de méthyle est un solvant acide. Pour mesurer le pK' de l'atropine dans ce solvant, nous avons utilisé la relation (42) en supposant que le coefficient d'extinction molaire du composé foncé était le même que dans le chloroforme (la longueur d'onde d'absorption maximum étant dans les deux cas 585 m μ), soit $\epsilon_{Al_2C} = 5.10^4$. Nous avons trouvé

$$pK_{Sa} \approx 2,2$$

Le salicylate de méthyle est aussi légèrement basique, mais, comme le montre la figure 52, notre méthode de purification n'a pas été suffisante pour éliminer en totalité les impuretés basiques. Il serait donc nécessaire d'opérer une purification plus poussée pour pouvoir calculer avec assez de précision le pK_{Sb_1} de ce solvant.

Applications pratiques

Le salicylate de méthyle est difficile à purifier, désagréable à manipuler ; il diminue, par son acidité, la sensibilité du dosage volumétrique, et contient des impuretés basiques gênant le dosage colorimétrique. Il est donc peu utilisable sur le plan pratique.

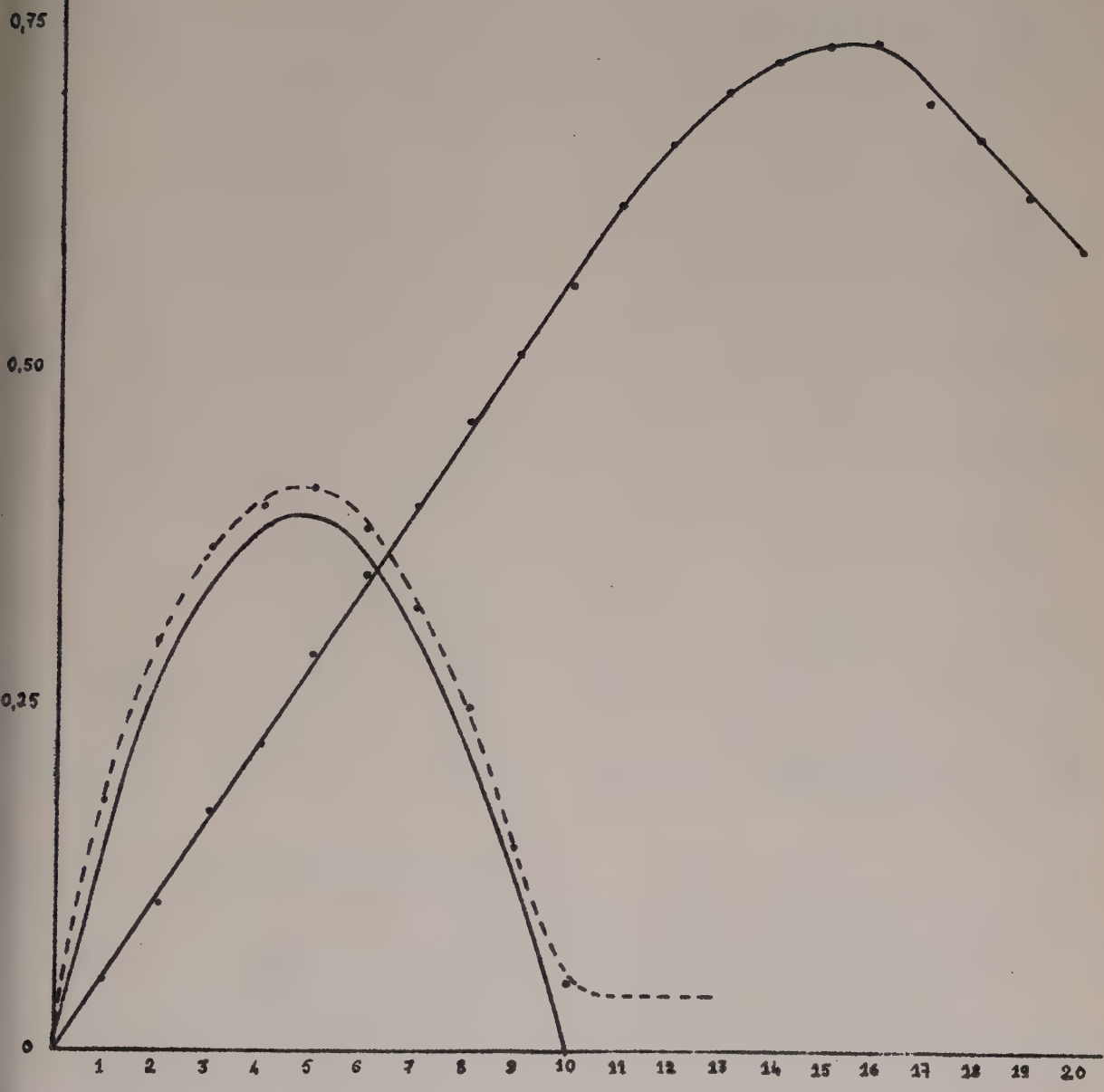
T A B L E A U XXXIII

Salicylate de Méthyle

Numéro du tube	$n = 0,5 \cdot 10^{-4}$	$n = 10^{-3}$
	Composé jaune	Composé foncé
	($\lambda = 415 \text{ m}\mu$)	($\lambda = 585 \text{ m}\mu$)
1	0,054	0,182
2	0,112	0,296
3	0,174	0,366
4	0,232	0,406
5	0,294	0,408
6	0,350	0,382
7	0,406	0,330
8	0,464	0,256
9	0,516	0,156
10	0,564	0,056
11	0,622	0,042
12	0,668	0,040
13	0,708	0,041
14	0,728	
15	0,742	
16	0,746	
17	0,706	
18	0,682	
19	0,634	
20	0,596	

D

Figure 52



SALICYLATE de METHYLE

(Courbes des variations continues)

7 - Solvant de GYENES

Préparation du solvant

C'est une solution à 20 % (p/v) de phénol dans le tétrachlorure de carbone. Ce solvant a été utilisé par GYENES pour le dosage des gluco-alcaloïdes de Solanum (20). Nous l'avons préparé avec du phénol et du tétrachlorure de carbone distillés au laboratoire.

Résultats

Les résultats pour $n = 0,5 \cdot 10^{-4}$ et 10^{-4} sont indiqués sur le tableau XXXIV et la figure 53. Les maxima d'absorption sont situés à 440 et 605 m μ ; comme dans le cas du salicylate de méthyle, les bandes d'absorption du composé jaune et du composé foncé empiètent légèrement l'une sur l'autre ; sur la figure 53, nous avons représenté en pointillés la courbe expérimentale D_{605} , et en traits pleins la courbe D_{Al_2C} ; elle coupe l'axe des abscisses pour $x = n/2$.

Interprétation des résultats

Le solvant de GYENES est à la fois légèrement acide et légèrement basique ; ces caractères peuvent être imputés à la présence du phénol, acide faible ($pK_{A \text{ H}_2O} (HA/A^-) : 9,9$) et base très faible ($pK_{A \text{ H}_2O} (HB^+/B) : \text{compris entre } -6 \text{ et } -2$)

Applications pratiques

Ce solvant peut être employé pour le dosage volumétrique dont il abaisse la sensibilité par sa légère acidité ; il est désagréable à préparer et à manipuler, mais c'est le meilleur solvant peu dissociant de la morphine et des gluco-alcaloïdes de Solanum ; il est donc avantageux de l'employer pour le dosage volumétrique de ces alcaloïdes. Par contre il est trop basique pour en permettre le dosage colorimétrique.

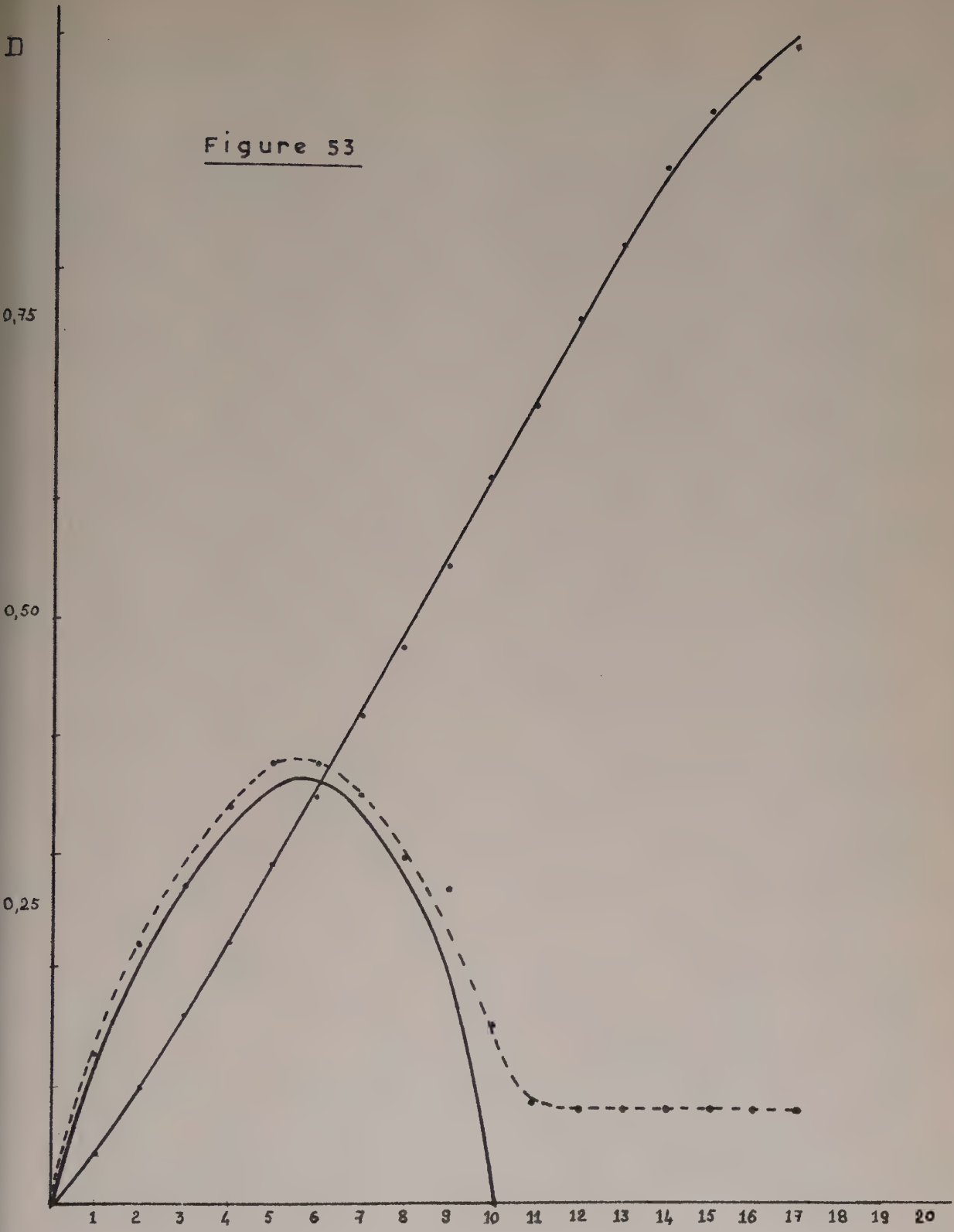
T A B L E A U XXXIV

Solvant de GYENES

Numéro du tube	$n = 0,5 \cdot 10^{-4}$		$n = 10^{-4}$	
	Composé jaune		Composé foncé	
	$\lambda_{\max} = 440 \text{ m}\mu$	$\lambda = 605 \text{ m}\mu$	$\lambda_{\max} = 605 \text{ m}\mu$	
1	0,046	0,024	0,130	
2	0,106	0,038	0,222	
3	0,168	0,058	0,268	
4	0,226	0,054	0,342	
5	0,296	0,060	0,380	
6	0,350	0,060	0,368	
7	0,424	0,060	0,354	
8	0,482	0,054	0,296	
9	0,548	0,060	0,270	
10	0,630	0,058	0,156	
11	0,688	0,058	0,132	
12	0,764	0,058	0,130	
13	0,830	0,058	0,131	
14	0,896	0,055		
15	0,942	0,052		
16	0,970	0,058		
17	1,0...	-		
18	>1	-		
19	>1	-		
20	>1	-		

D

Figure 53



SOLVANT de GYENES

(Courbes des variations continues)

En résumé, l'étude des courbes des variations continues dans différents solvants a permis de calculer le pK_{Sa} et le pK_{Sb} de ces solvants, en étudiant leur influence sur les relations d'association entre bleu de bromophénol et atropine. Ces valeurs permettent en principe de situer les limitations de l'échelle unique par les solvants étudiés, connaissant la place de B.B.P. et de l'atropine sur cette échelle ; en fait il est hasardeux de considérer cette limitation comme universelle ; en effet l'influence du solvant sur l'acidité d'une substance peut varier avec les dimensions moléculaires et les propriétés chimiques de cette substance ; ainsi le solvant peut agir différemment sur une molécule complexe comme celle du B.B.P., où la formation de l'anion s'accompagne d'un bouleversement de toute la structure électronique et sur une molécule simple comme celle de HCl par exemple (38).

Cependant la position des limitations sur l'échelle unique permet de prévoir avec une bonne approximation la précision des dosages d'alcaloïdes à l'aide des colorants dans ces solvants. Nous avons représenté sur la figure 54 ces limitations pour les solvants étudiés.

En pratique, nous retiendrons pour le dosage colorimétrique les solvants les moins basiques : benzène, chlorobenzène, chloroforme ; les solvants légèrement basiques : éther éthylique, tétrahydrofuranne, dioxanne, méthylal, acétate d'éthyle peuvent être employés en appliquant la relation (74) ; le salicylate de méthyle et le solvant de GYENES doivent être écartés.

Pour le dosage volumétrique certains solvants de faibles constantes diélectriques : benzène, chlorobenzène, éther éthylique, sont inutilisables ; le composé foncé Al_2C y précipite

dès que la concentration est égale ou supérieure à $10^{-4}M$ environ ; le dioxanne, le tétrahydrofuranne, le méthylal pourraient être employés, mais leur acidité abaisse la sensibilité du dosage ; il en est de même du solvant de GYENES qu'on réserve aux alcaloïdes peu solubles ; morphine, glucosides ; l'acétate d'éthyle est presque inerte et c'est un bon solvant des colorants, des alcaloïdes et des composés colorés ; mais le produit commercial contient souvent des traces d'impuretés basiques qui amènent une erreur par excès. Le meilleur solvant pour le dosage volumétrique est le chloroforme R.P. qu'on emploie sans purification après avoir vérifié que la solution du B.B.P. y est presque incolore.

déterminées à partir des réactions entre B.B.P. et Atropine

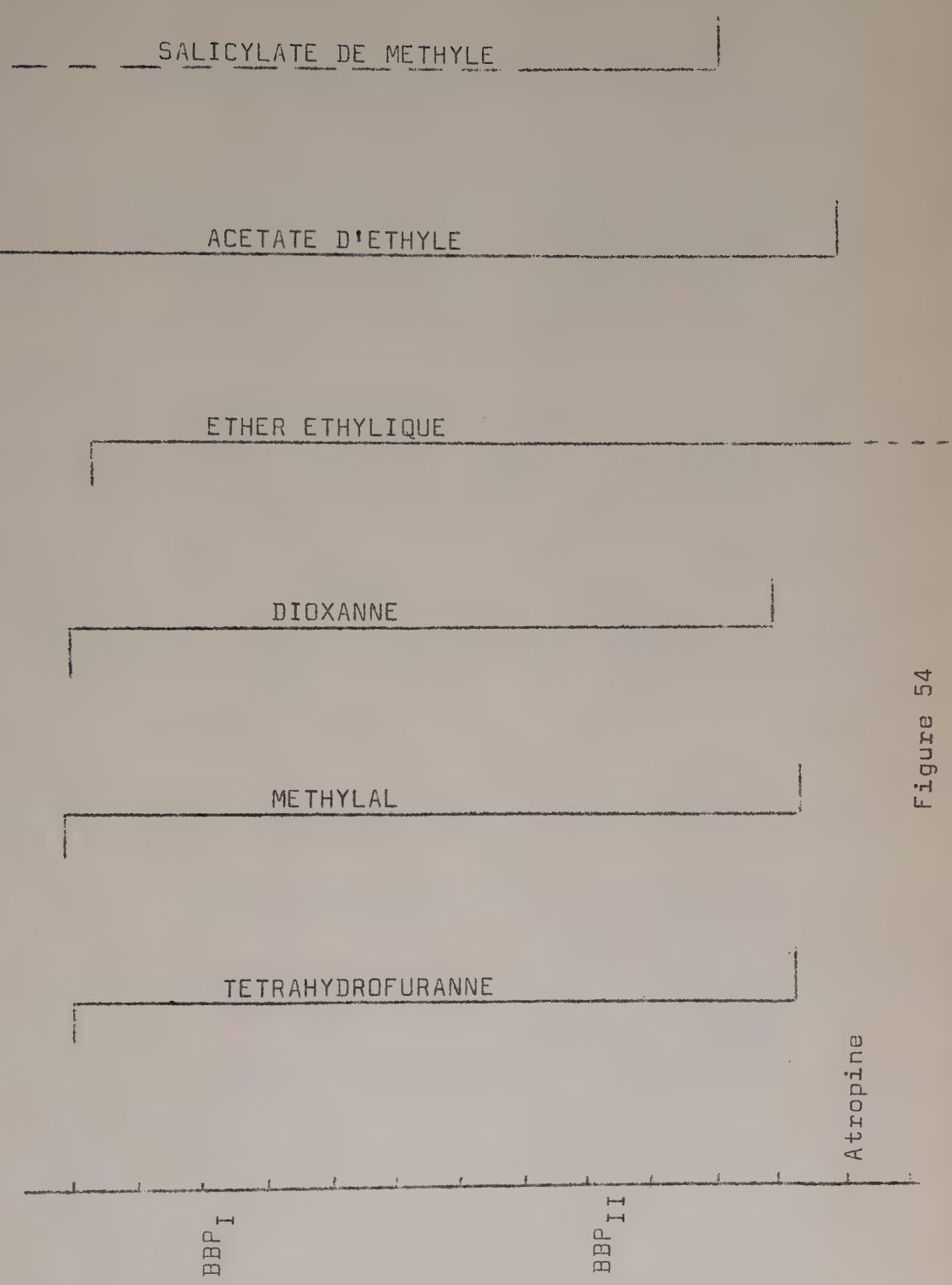


Figure 54

CHAPITRE V

CONSTRUCTION D'UNE ECHELLE UNIQUE D'ACIDITE - BASICITE DES ALCALOÏDES ET DES COLORANTS DERIVES DE LA PHENOLSULFONEPHTALEINE EN MILIEU PEU DISSOCIANT.

Il est nécessaire pour déterminer théoriquement la précision et la sensibilité des dosages d'alcaloïdes à l'aide des colorants de connaître leurs positions relatives sur une échelle unique de pK ; après avoir décrit les méthodes employées pour mesurer ces pK , nous donnerons les résultats obtenus avec quatre colorants : bleu de bromophénol, vert de bromocrésol, pourpre de bromocrésol et bleu de bromothymol, et un certain nombre d'alcaloïdes dans le chloroforme R.P.

- PRINCIPE DE LA DETERMINATION DES pK

Deux méthodes de détermination des pK par spectrophotométrie sont devenues classiques (4, p. 34, 30, 35, etc...) . Dans le cas de l'étude du pK d'un colorant acide, le principe de ces méthodes peut être exprimé de la manière suivante :

a) Combinaison du colorant acide HC avec une base B

La mesure du pK s'appuie sur la définition même de la constante d'équilibre :

$$K_{HC} = \frac{(B)(HC)}{(BHC)}$$

Si la concentration totale du colorant dans la solution est (HC_t) et celle de la base (B_t) on a à l'équilibre :

$$(HC_t) = (HC) + (BHC)$$

$$(B_t) = (B) + (BHC)$$

d'où :

$$K_{HC} = \frac{((B_t) - (BHC)) ((HC_t) - (BHC))}{(BHC)} \quad (77)$$

Si la concentration de la base est grande auprès de celle du colorant, on peut négliger (BHC) devant (B_t) et écrire :

$$K_{HC} = \frac{(B_t) ((HC_t) - (BHC))}{(BHC)} \quad (78)$$

On a alors :

$$pK_{HC} = \log \frac{(BHC)}{((HC_t) - (BHC))} - \log (B_t)$$

ou :

$$\log \frac{(BHC)}{((HC_t) - (BHC))} = pK_{HC} + \log (B_t)$$

soit, en remplaçant (BHC) par sa valeur D/ϵ déduite de la loi de BEER :

$$\log \frac{\frac{D}{\epsilon}}{((HC_t) - \frac{D}{\epsilon})} = pK_{HC} + \log (B_t) \quad (79)$$

Si l'on fait varier (B_t) , (HC_t) gardant une valeur constante, et si l'on mesure les valeurs correspondantes de D , on peut construire la courbe représentant les variations de $\log \frac{D/\epsilon}{(HC_t) - D/\epsilon}$ en fonction de $\log (B_t)$; on doit obtenir une droite, de pente - 1, coupant l'axe des ordonnées au point d'ordonnée pK_{HC} .

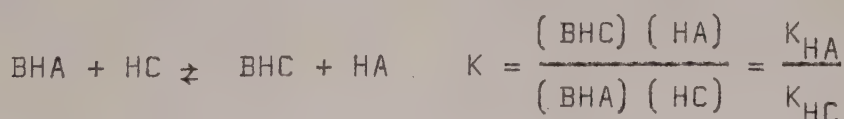
La relation (79) n'est valable que si la concentration en colorant est très faible devant la concentration en base.

b) Combinaison compétitive du colorant acide HC et d'un acide non coloré HA vis-à-vis d'une même base forte B.

L'acide non coloré HA et le colorant acide HC se combinent à la base B suivant les réactions :



Si l'on ajoute HC à une solution contenant HA et BHA, il y a compétition entre les deux acides vis-à-vis de la base :



Si la base est très forte vis-à-vis de HA et de HC, on peut admettre qu'elle se trouve entièrement combinée dans la solution sous forme de BHA et de BHC. Si (HA_t) , (B_t) et (HC_t) sont les concentrations totales en HA, B et HC, on peut écrire :

$$(BHA) = (B_t) - (BHC)$$

$$(HA) = (HA_t) - (BHA) = (HA_t) - (B_t) + (BHC)$$

$$(HC) = (HC_t) - (BHC)$$

et comme :

$$(BHC) = \frac{D}{\epsilon}$$

on a :

$$\frac{K_{HA}}{K_{HC}} = \frac{\frac{D}{\epsilon} ((HA_t) - (B_t) + \frac{D}{\epsilon})}{((B_t) - \frac{D}{\epsilon}) ((HC_t) - \frac{D}{\epsilon})} \quad (80)$$

Cette relation permet de calculer K_{HC} si l'on connaît K_{HA} ou inversement.

Ces deux méthodes de détermination des pK sont valables dans un solvant non dissociant idéal ; mais un tel solvant n'existe pas en pratique et les paires d'ions sont le plus souvent en partie dissociée ; on peut ainsi avoir :



K_C est la constante de dissociation de la paire d'ions.

La réaction entre base et colorant acide devient alors :



L'ion C^- présente en général la même couleur que la paire d'ions BHC ; la densité optique mesurée correspond donc à la

somme $(\text{BHC}) + (\text{C}^-)$; il y a erreur par excès sur la détermination de pK_{HC} , d'autant plus grande que K_{C} est plus grand ; or on démontre (4, p. 96) que :

$$K_{\text{C}} = \frac{K_{\text{D}}}{1 + K_{\text{S}}}$$

K_{C} augmente donc quand K_{S} diminue, c'est-à-dire lorsque le pouvoir solvolysant du solvant est plus grand, et quand K_{D} augmente, c'est-à-dire lorsque la constante diélectrique du solvant et le rayon des ions sont plus grands, et les charges de ces ions sont plus petites, d'après la relation de DENISON et RAMSEY (p. 35).

Dans le cas des réactions entre alcaloïdes et colorants dérivés de la P.S.P. en solution diluée on pourrait attendre une certaine dissociation des sels formés, due à la faible concentration et aux grandes dimensions des ions. Cette dissociation ne peut être que très légère en milieu peu dissociant pour les sels de la fonction acide faible du colorant, car elle donnerait naissance à des ions à double charge négative. Par contre elle pourrait éventuellement se produire pour les sels de la fonction acide fort des colorants. Une étude sur les réactions en milieu peu dissociant entre le bleu de bromophénol et certaines bases organiques telles que la pyridine, l'isoquinoléine, a été publiée, en 1962, par POPOVYCH (30) ; cet auteur a montré, par des mesures conductimétriques, que la constante de dissociation des paires d'ions formées était de l'ordre de 10^{-10} , dans un mélange toluène-isopropanol, dont la constante diélectrique, égale à 4,8, était voisine de celle du chloroforme. Dans le chloroforme, solvant moins solvolysant que le mélange étudié, la dissociation doit être encore plus faible ; on peut alors la négliger.

- APPLICATION AUX COLORANTS DERIVES DE LA P.S.P. ET AUX ALCALOÏDES

La construction d'une échelle unique de pK , permettant de comparer les deux fonctions acides des colorants aux fonctions basiques des alcaloïdes, s'est effectuée en quatre étapes.

- détermination des ΔpK entre les fonctions "acide fort" C_I des différents colorants ;
- détermination des ΔpK entre les fonctions "acide faible" C_{II} des différents colorants ;
- détermination du ΔpK entre les deux fonctions acides C_I et C_{II} d'un même colorant ;
- détermination des pK entre alcaloïdes et fonction "acide faible" des colorants.

Toutes les mesures ont été effectuées dans le chloroforme R.P.

I - ΔpK entre fonctions "acide fort" C_I des différents colorants

Ces ΔpK ont été déterminés en utilisant les deux méthodes dont les principes ont été exposés :

- réaction directe de la fonction "acide fort" du colorant avec une même base faible ;
- compétition entre la fonction "acide fort" du colorant et un acide faible vis-à-vis d'une même base forte.

Afin de pouvoir interpréter les résultats expérimentaux nous avons mesuré le coefficient d'extinction molaire des paires d'ions BHC pour chacun des colorants étudiés, en nous basant sur la définition de ce coefficient :

$$\epsilon_{BHC} = \frac{D}{(BHC)}$$

Nous avons fait réagir dans le chloroforme R.P. chacun des colorants avec une même base forte, l'atropine ou la di-phénylguanidine, en effectuant quatre mesures à des concentrations différentes pour chaque base et chaque colorant ; nous avons employé un excès de colorant afin d'obtenir une réaction quantitative ; nous avons fait en sorte que cet excès soit toujours le même, afin que la densité D_0 due à son absorption propre soit constante.

Sur un graphique, nous avons porté en ordonnées les densités obtenues à la longueur d'onde d'absorption maxima et en abscisses les concentrations molaires en BHC, soit (B_t) . Nous avons obtenu pour chaque colorant une droite représentative de la fonction :

$$D = \epsilon_{BHC} (B_t) + D_0$$

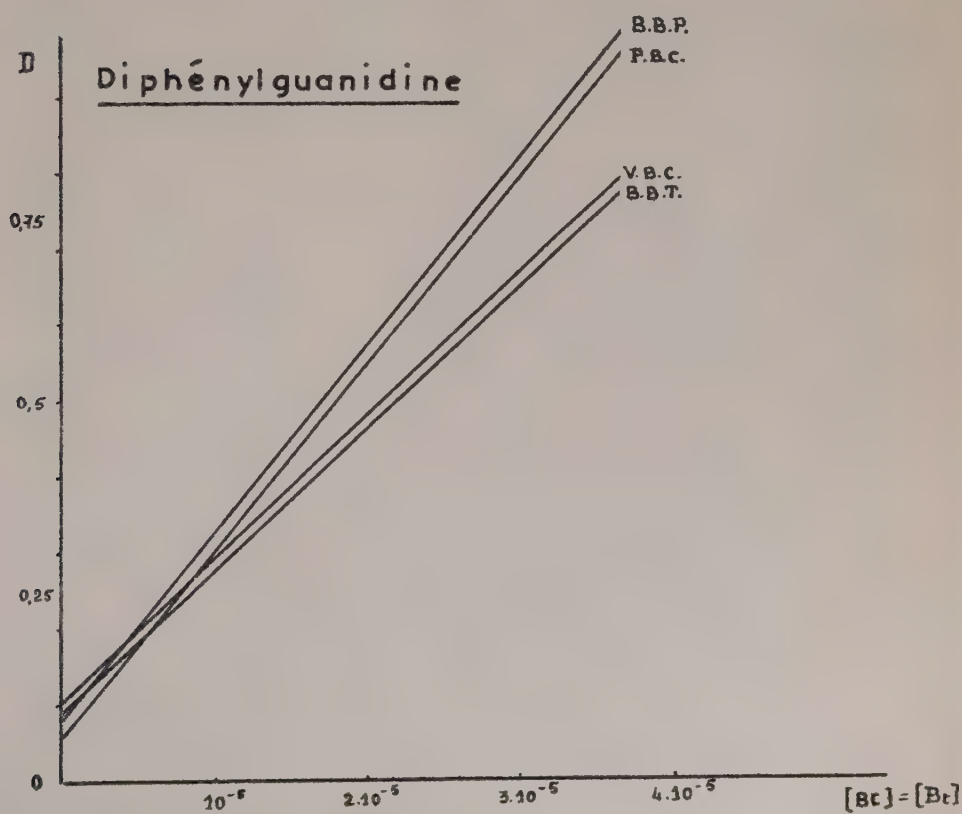
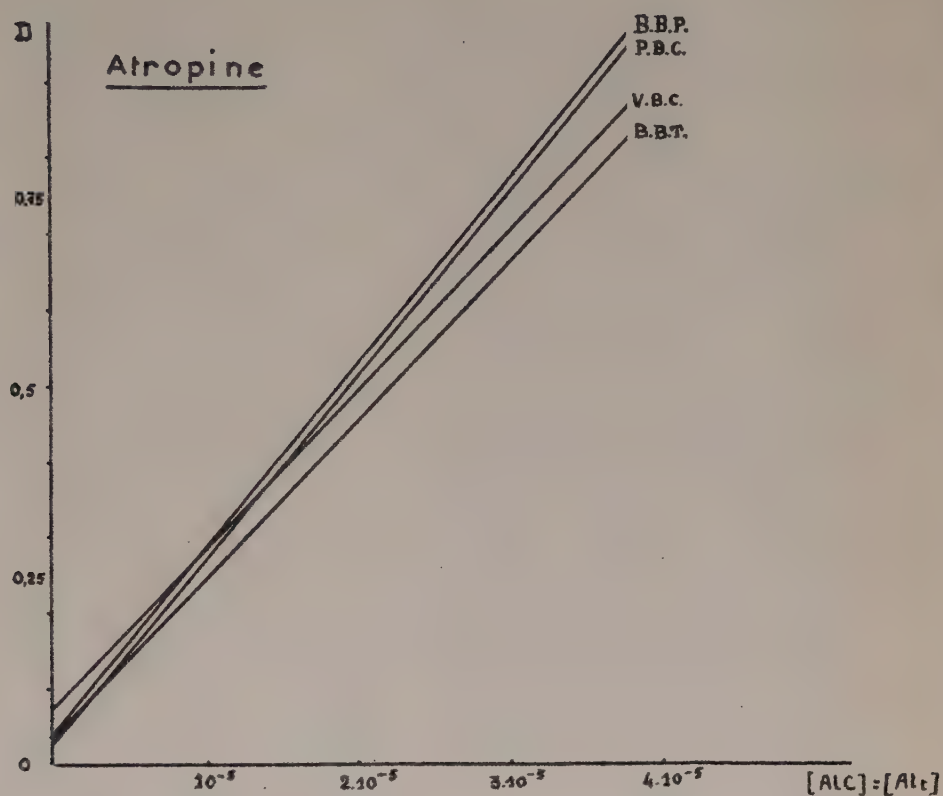
Les résultats sont représentés sur le tableau XXXV et la figure 56.

Les valeurs d' ϵ_{BHC} sont donc les suivantes :

Colorant	λ max	ϵ_{BHC}
Bleu de bromophénol	415 m μ	$2,44 \cdot 10^4$
Pourpre de bromocrésol	410	$2,44 \cdot 10^4$
Vert de bromocrésol	415	$1,9 \cdot 10^4$
Bleu de bromothymol	415	$1,9 \cdot 10^4$

Les résultats sont en accord avec ceux de POPOVYCH (30) (B.B.P. : $\epsilon_{415} = 2,4 \cdot 10^4$ dans le benzène) et de DAVIS (9) (V.B.C. : $\epsilon_{410} = 2 \cdot 10^4$ dans le benzène).

Figure 56



ATROPINE

(AIC)	BBP D ₄₁₅	VBC D ₄₂₀	PBC D ₄₁₀	BBT D ₄₂₀
1 .10 ⁻⁵	0,305	0,276	0,270	0,226
2 .10 ⁻⁵	0,516	0,424	0,510	0,430
3 .10 ⁻⁵	0,800	0,720	0,790	0,682
4 .10 ⁻⁵	1,05	0,918	1,05	0,885
Valeur moyenne d' ϵ_{AIC}	2,45.10 ⁴	2.10 ⁴	2,44.10 ⁴	2.10 ⁴

DIPHENYLGUANIDINE

(BC)	BBP D ₄₁₅	VBC D ₄₂₀	PBC D ₄₁₀	BBT D ₄₂₀
0,8.10 ⁻⁵	0,270	0,262	0,253	0,268
1,6.10 ⁻⁵	0,468	0,385	0,450	0,382
2,4.10 ⁻⁵	0,662	0,554	0,660	0,530
3,2.10 ⁻⁵	0,870	0,712	0,856	0,680
Valeur moyenne d' ϵ_{BC}	2,44.10 ⁴	1,87.10 ⁴	2,46.10 ⁴	1,71.10 ⁴

a) Détermination des ΔpK par la première méthode

Le principe de la méthode est basé sur la réaction d'équilibre entre la fonction acide fort du colorant et une base faible. Nous avons rejeté les bases liquides telles que l'aniline et la pyridine, difficiles à obtenir à l'état rigoureusement pur, et dont la concentration en solution chloroformique ne pouvait être déterminée de manière précise. Après avoir écarté la colchicine, qui possède une absorption propre importante vers $415 \text{ m}\mu$, et les naphtylaminés, qui se décomposent en solution, nous avons adopté la narcéine pour nos études d'équilibre. Cette base étant assez forte par rapport à C_I , nous n'avons pu l'employer en grand excès par rapport au colorant et nous avons appliqué la relation (77), au lieu de (79), plus souvent utilisée. Pour chaque colorant, quatre mesures au moins de densité optique ont été effectuées sur des solutions contenant colorant et alcaloïde à des concentrations variant entre 10^{-4} M et 10^{-5} M . Les résultats sont représentés sur le tableau XXXVI.

Les valeurs des pK et ΔpK , déterminées à partir de la valeur moyenne de K sont :

	Colorant	pK entre C_I et narcéine	ΔpK entre deux: colorants successifs (C_I):	
BC _I	Vert de bromocrésol	6,8	}	0,6
BT _I	Bleu de bromothymol	6,2	}	0,3
BP _I	Bleu de bromophénol	5,9	}	0,2
BC _I	Pourpre de bromo- crésol	5,7		

C _B	C _{HC}	BBP _I		VBC _I		BBT _I		PBC _I	
		D ₄₁₅	K	D ₄₁₅	K	D ₄₁₅	K	D ₄₁₀	K
4	.10 ⁻⁵ :5	0,870	:1,7 .10 ⁻⁶	0,748	:1,9 .10 ⁻⁷	0,716	:7,9 .10 ⁻⁷	0,860	:2 .10 ⁻⁶
3	.10 ⁻⁵ :3,75.10 ⁻⁵	0,660	:0,8 .10 ⁻⁶	0,556	:2,27.10 ⁻⁷	0,534	:6,35.10 ⁻⁷	0,620	:2,1 .10 ⁻⁶
2	.10 ⁻⁵ :2,50.10 ⁻⁵	0,430	:1,10.10 ⁻⁶	0,375	:0,80.10 ⁻⁷	0,354	:4,80.10 ⁻⁷	0,400	:2,25.10 ⁻⁶
	10 ⁻⁵ :1,25.10 ⁻⁵	0,210	:0,63.10 ⁻⁶	0,180	:1,97.10 ⁻⁷			0,260	:1,03.10 ⁻⁶
5	.10 ⁻⁵ :5	1							
3,75.10 ⁻⁵	:3,75.10 ⁻⁵	0,802	:1,48.10 ⁻⁶						
2,50.10 ⁻⁵	:2,50.10 ⁻⁵	0,504	:1,06.10 ⁻⁶						
1,25.10 ⁻⁵	:1,25.10 ⁻⁵	0,252	:2,12.10 ⁻⁶						
Valeur moyenne de K.....		1,25.10 ⁻⁶		1,73.10 ⁻⁷		6,35.10 ⁻⁷		1,84.10 ⁻⁶	
Ecart-type.....		0,5 .10 ⁻⁶		0,55.10 ⁻⁷		1 .10 ⁻⁷		0,15.10 ⁻⁶	
		5,76 < pK < 6,12		6,65 < pK < 6,94		6,13 < pK < 6,27		5,71 < pK < 5,78	

C_B	C_{HC}	C_{HA}	BBP I		VBC I		BBT I		PBC I	
			D_{415}	$\frac{K_2}{K_1}$	D_{415}	$\frac{K_2}{K_1}$	D_{415}	$\frac{K_2}{K_1}$	D_{410}	$\frac{K_2}{K_1}$
$2,5 \cdot 10^{-5}$	$2,5 \cdot 10^{-5}$	$1,5 \cdot 10^{-2}$	0,466	$8,3 \cdot 10^3$	0,400	$1,96 \cdot 10^4$	0,390	$1,51 \cdot 10^4$	0,400	$3,23 \cdot 10^3$
		$3,5 \cdot 10^{-2}$	0,410	$8,7 \cdot 10^3$	0,395	$3,91 \cdot 10^4$	0,378	$1,13 \cdot 10^4$	0,366	$5,24 \cdot 10^3$
		$5,5 \cdot 10^{-2}$	0,370	$8,4 \cdot 10^3$	0,380	$4,40 \cdot 10^4$	0,332	$1,65 \cdot 10^4$	0,282	$3,47 \cdot 10^3$
		$7,5 \cdot 10^{-2}$	0,348	$9,1 \cdot 10^3$	0,325	$2,05 \cdot 10^4$	0,318	$1,81 \cdot 10^4$	0,252	$3,57 \cdot 10^3$
		$9,5 \cdot 10^{-2}$	0,330	$9,5 \cdot 10^3$	0,310	$2,04 \cdot 10^4$	0,311	$2,04 \cdot 10^4$	0,232	$3,75 \cdot 10^3$
Valeur moyenne de K_2/K_1			$8,8 \cdot 10^3$		$2,87 \cdot 10^4$		$1,83 \cdot 10^4$		$3,85 \cdot 10^3$	
Ecart-type.....			$0,45 \cdot 10^3$		$1,06 \cdot 10^4$		$0,37 \cdot 10^4$		$0,7 \cdot 10^3$	
			$3,92 < \Delta pK < 3,96$		$4,25 < \Delta pK < 4,59$		$4,16 < \Delta pK < 4,34$		$3,49 < \Delta pK < 3,65$	

Au cours des expériences, la réaction entre base et colorant a été presque quantitative, en particulier pour le vert de bromocrésol. Les erreurs sur les deux membres du numérateur dans la relation (77) sont donc importantes, malgré la précision du spectrophotomètre et le pK ne peut être exprimé qu'à $\pm 0,2$ unités près.

b) Détermination des ΔpK par la seconde méthode

Nous avons repris la mesure des ΔpK par la seconde méthode basée sur la compétition entre un acide incolore et la fonction "acide fort" des colorants vis-à-vis d'une même base forte. Nous avons choisi l'acide salicylique, très soluble dans le chloroforme et la diphenylguanidine, située très bas sur l'échelle unique.

L'acide salicylique étant faible par rapport à la fonction acide fort des colorants, nous avons dû l'employer en grand excès (concentrations de $10^{-2}M$ à $10^{-1}M$). Les concentrations en colorant et en base sont voisines de $10^{-5}M$.

La relation (80) peut alors s'écrire :

$$\frac{K_{HA}}{K_{HC}} = \frac{(HA_t) \frac{D}{\epsilon}}{((B_t) - \frac{D}{\epsilon}) ((HC_t) - \frac{D}{\epsilon})}$$

Les résultats expérimentaux obtenus en faisant varier les concentrations sont représentés sur le tableau XXXVII.

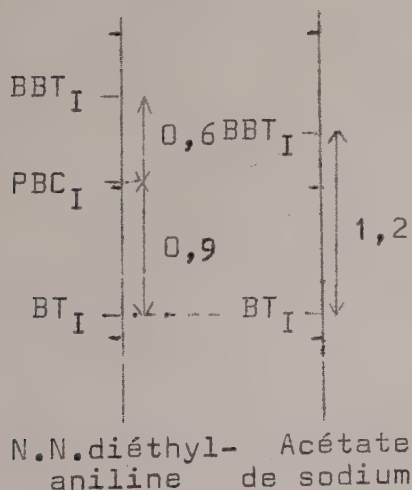
Les valeurs de ΔpK entre acide salicylique et colorant d'une part, entre deux colorants successifs d'autre part, sont :

	Colorant	ΔpK entre C_I et acide salicylique	ΔpK entre deux colorants successifs (C_I)
PBC _I	Vert de bromocrésol	4,6	0,35
BBT _I	Bleu de bromothymol	4,25	0,3
PBP _I	Bleu de bromophénol	3,95	0,35
PBC _I	Pourpre de bromocrésol	3,60	

Ces résultats sont de l'ordre de ceux obtenus par la première méthode. Il est donc possible de placer les unes par rapport aux autres, les fonctions "acide fort" des colorants sur l'échelle unique dans le chloroforme.

c) Comparaison avec les résultats publiés antérieurement

En 1960, l'école de TREMILLON comparait l'acidité des colorants dans l'acide acétique (27). Ils déterminaient par la première méthode le pK du bleu de thymol et du pourpre de bromocrésol vis-à-vis de la N.N.diéthylaniline, et, par la seconde méthode, le ΔpK entre le bleu de bromothymol et l'acide trichloracétique. De même ils établissaient les pK du bleu de thymol et du bleu de bromothymol par rapport à l'acétate de sodium. Les échelles construites à partir de leurs résultats sont reproduites sur la figure 57. Le ΔpK entre le bleu de bromothymol et le pourpre de bromocrésol est à 0,1 unité pK près égal à celui trouvé au cours de nos expériences.



Cette école reprenait en 1964, la même étude dans le chloroforme (35); les acidités du bleu de bromothymol et du pourpre de bromocré-

Figure 57

sol étaient étudiées suivant la seconde méthode, par compétition avec les acides trichloracétique et dichloracétique vis-à-vis de la n-butylamine ; les auteurs trouvaient entre les deux colorants un ΔpK de 0,8.

II - ΔpK entre fonctions "acide faible" des différents colorants

Ces pK ont été déterminés par la première méthode, en faisant réagir les fonctions "acide faible" des différents colorants sur une même base forte, la diphénylguanidine. Nous avons évité l'emploi d'un trop grand excès de base, qui entraîne la formation d'agrégats d'ions. Par ailleurs l'impossibilité d'obtenir dans le chloroforme le composé B_2H_2C pur entre colorant et diphénylguanidine, empêche de mesurer son coefficient d'extinction molaire ; aussi avons-nous calculé la valeur de K à partir de la densité optique à 410-420 $m\mu$, en appliquant la relation (34). Nous avons pu au cours de la même expérience calculer la valeur d' ϵ_{Al_2C} , en utilisant la formule (44).

Les mesures de densités optiques ont été effectuées sur des dilutions progressives d'une même solution-mère, préparée à partir des solutions $10^{-3} M$ de colorant et de base. Nous avons utilisé le spectrophotomètre graphi-spectral JOUAN et des cuves de 1 cm d'épaisseur dans le cas du bleu de bromophénol et du vert de bromocrésol, et l'appareil JEAN & CONSTANT avec des cuves de 0,5 cm d'épaisseur dans le cas du pourpre de bromocrésol, dont la seconde fonction acide est très faible. Aux concentrations étudiées, le bleu de bromothymol se comporte comme un mono-acide et ne donne pas de composé foncé.

Les résultats obtenus sont représentés sur les tableaux XXXVIII, XXXIX et XL.

pk entre B. B. P. II et DIPHENYLGUANIDINE

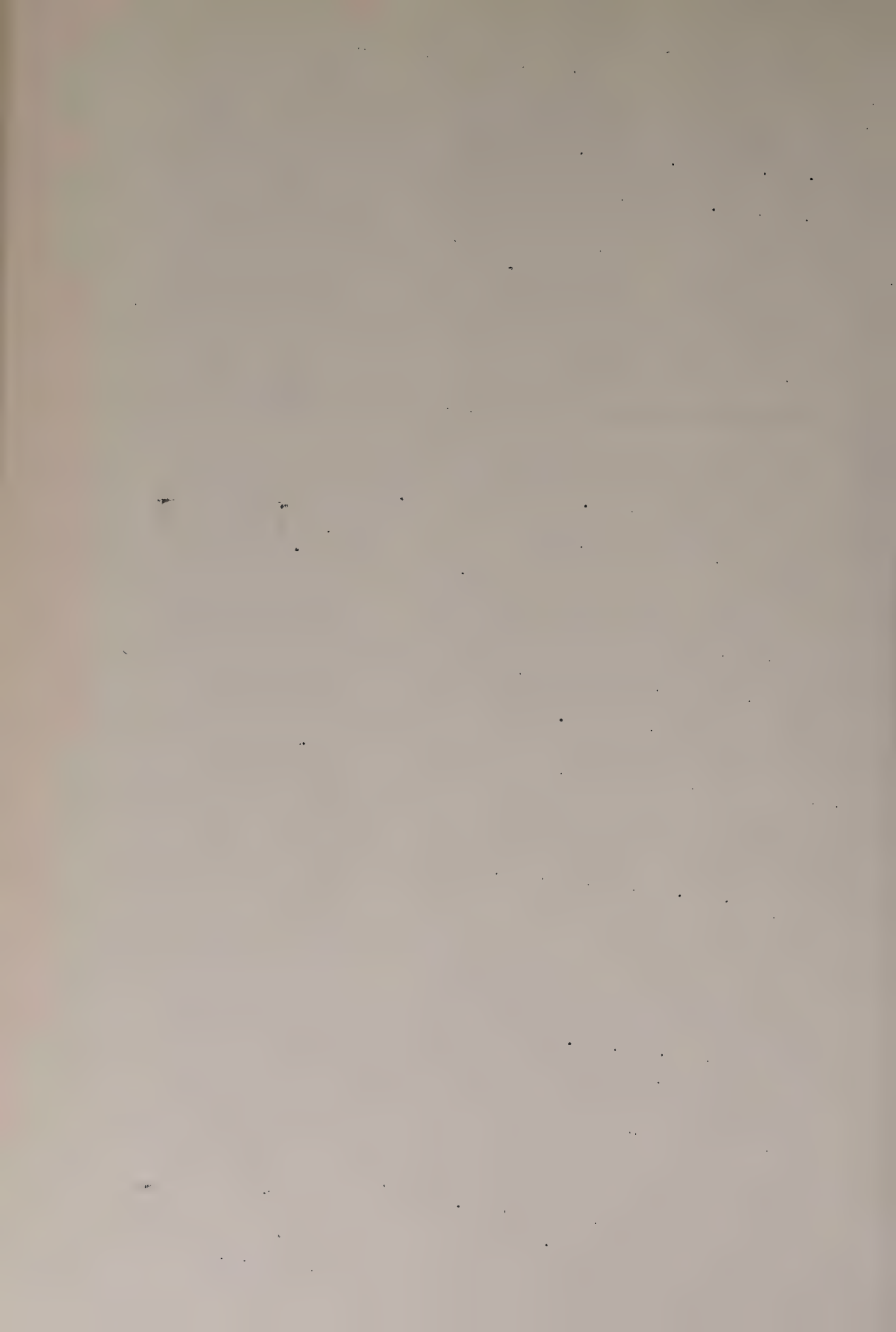
x	n	D ₄₁₅	(BC)	$\frac{1}{K}$	D ₅₇₀	ϵ_{B_2C}
2 . 10 ⁻⁵	6 . 10 ⁻⁵	0,225	0,922 . 10 ⁻⁵	1,26 . 10 ⁵	0,546	5,06 . 10 ⁴
1,8 . 10 ⁻⁵	5,4 . 10 ⁻⁵	0,240	0,983 . 10 ⁻⁵	1,05 . 10 ⁵	0,478	4,70 . 10 ⁴
1,6 . 10 ⁻⁵	4,8 . 10 ⁻⁵	0,228	0,934 . 10 ⁻⁵	0,99 . 10 ⁵	0,448	5,17 . 10 ⁴
1,4 . 10 ⁻⁵	4,2 . 10 ⁻⁵	0,255	1,045 . 10 ⁻⁵	0,691 . 10 ⁵	0,380	5,03 . 10 ⁴
1,2 . 10 ⁻⁵	3,6 . 10 ⁻⁵	0,200	0,819 . 10 ⁻⁵	1,16 . 10 ⁵	0,380	4,86 . 10 ⁴
1,0 . 10 ⁻⁵	3,0 . 10 ⁻⁵	0,224	0,918 . 10 ⁻⁵	0,809 . 10 ⁵	0,348	5,10 . 10 ⁴
0,8 . 10 ⁻⁵	2,4 . 10 ⁻⁵	0,172	0,704 . 10 ⁻⁵	1,4 . 10 ⁵	0,314	4,51 . 10 ⁴
0,6 . 10 ⁻⁵	1,8 . 10 ⁻⁵	0,200	0,819 . 10 ⁻⁵	0,807 . 10 ⁵	0,296	5,09 . 10 ⁴
0,4 . 10 ⁻⁵	1,2 . 10 ⁻⁵	0,178	0,729 . 10 ⁻⁵	0,88 . 10 ⁵	0,268	5,69 . 10 ⁴
0,2 . 10 ⁻⁵	0,6 . 10 ⁻⁵	0,172	0,704 . 10 ⁻⁵	1 . 10 ⁵	0,260	5,24 . 10 ⁴
0,1 . 10 ⁻⁵	0,3 . 10 ⁻⁵	0,158	0,647 . 10 ⁻⁵	0,84 . 10 ⁵	0,194	5,49 . 10 ⁴
		0,160	0,655 . 10 ⁻⁵	0,804 . 10 ⁵	0,192	5,56 . 10 ⁴
Valeur moyenne de 1/K....					Valeur moyenne de ϵ_{B_2C}	
Ecart-type.....					5,14 . 10 ⁴	

4,88 < pK < 5,06

pK entre V. B. C. II et DIPHENYL GUANIDINE

x	n	D ₄₁₅	(BC)	$\frac{1}{K}$	D ₅₈₀	ϵ_{B_2C}
5 . 10 ⁻⁵	25 . 10 ⁻⁵	0,590	3,1 . 10 ⁻⁵	4,68 . 10 ³	0,816	4,29 . 10 ⁴
4,5 . 10 ⁻⁵	22,5 . 10 ⁻⁵	0,540	2,84 . 10 ⁻⁵	4,93 . 10 ³	0,704	4,24 . 10 ⁴
4 . 10 ⁻⁵	20 . 10 ⁻⁵	0,496	2,61 . 10 ⁻⁵	5,01 . 10 ³	0,600	4,31 . 10 ⁴
3,5 . 10 ⁻⁵	17,5 . 10 ⁻⁵	0,445	2,34 . 10 ⁻⁵	5,3 . 10 ³	0,500	4,31 . 10 ⁴
3 . 10 ⁻⁵	15 . 10 ⁻⁵	0,398	2,09 . 10 ⁻⁵	5,38 . 10 ³	0,400	4,39 . 10 ⁴
2,5 . 10 ⁻⁵	12,5 . 10 ⁻⁵	0,355	1,86 . 10 ⁻⁵	5,01 . 10 ³	0,302	4,71 . 10 ⁴
Valeur moyenne de 1/K..... 4,95 . 10 ³						
Ecart-type..... 0,25 . 10 ³						
Valeur moyenne d' ϵ_{B_2C}						
4,37 . 10 ⁴						

3,67 < pK < 3,71



T A B L E A U XL

pK entre P. B. C. II et DIPHENYLGUANIDINE

x	n	D ₄₁₀	(BC)	$\frac{1}{K}$	D ₅₆₀	ϵ_{B_2C}
10 . 10 ⁻⁵	100 . 10 ⁻⁵	2 x 1,169 *	9,58 . 10 ⁻⁵	0,55 . 10 ²	2 x 0,135 *	6,42 . 10 ⁴
9 . 10 ⁻⁵	90 . 10 ⁻⁵	2 x 1,060 *	8,68 . 10 ⁻⁵	0,514 . 10 ²	2 x 0,107 *	6,62 . 10 ⁴
8 . 10 ⁻⁵	80 . 10 ⁻⁵	2 x 0,950 *	7,78 . 10 ⁻⁵	0,444 . 10 ²	2 x 0,080 *	7,27 . 10 ⁴
6,78 . 10 ⁻⁵	49,26 . 10 ⁻⁵	1,620	6,63 . 10 ⁻⁵	0,63 . 10 ²		
Valeur moyenne de 1/K.....0,534 . 10 ²						
Ecart-type.....0,07 . 10 ²						
Valeur moyenne d' ϵ_{B_2C} 6,8 . 10 ⁴						
1,66 < pK < 1,77						

* Mesures effectuées dans cuve de 0,5 cm d'épaisseur

Toutes les mesures ont été faites avec un spectrophotomètre JEAN & CONSTANT

pK entre B. B. P. II et. ATROPINE

x	n	D ₄₁₅	(A1C)	$\frac{1}{K}$	D ₅₈₅	$\epsilon_{Al_2O_3}$
4,5.10 ⁻⁵	20,7.10 ⁻⁵	0,520	2,13.10 ⁻⁵	1,18.10 ⁴	>1	
4.10 ⁻⁵	18,4.10 ⁻⁵	0,530	2,17.10 ⁻⁵	0,96.10 ⁴	0,920	5.10 ⁴
3,5.10 ⁻⁵	16,1.10 ⁻⁵	0,460	1,88.10 ⁻⁵	1,15.10 ⁴	0,780	4,8.10 ⁴
3.10 ⁻⁵	13,8.10 ⁻⁵	0,432	1,77.10 ⁻⁵	1,05.10 ⁴	0,624	5.10 ⁴
2,5.10 ⁻⁵	11,5.10 ⁻⁵	0,368	1,50.10 ⁻⁵	1,20.10 ⁴	0,500	5.10 ⁴
Valeur moyenne de 1/K.....				1,11.10 ⁴	Valeur moyenne d' $\epsilon_{Al_2O_3}$	
Ecart-type.....				0,08.10 ⁴	5.10 ⁴	

4,01 < pK < 4,07

pK entre V. B. C. II et ATROPINE

x	n	D ₄₁₅	(AIC)	$\frac{1}{K}$	D ₅₈₅	ϵ_{Al_2C}
5 . 10 ⁻⁵	23 . 10 ⁻⁵	0,890	4,68.10 ⁻⁵	5,31.10 ²	0,195	6,17.10 ⁴
4,5.10 ⁻⁵	20,7.10 ⁻⁵	0,812	4,27.10 ⁻⁵	4,63.10 ²	0,150	6,6 .10 ⁴
4 . 10 ⁻⁵	18,4.10 ⁻⁵	0,731	3,85.10 ⁻⁵	3,88.10 ²	0,130	8,5 .10 ⁴
3,5.10 ⁻⁵	16,1.10 ⁻⁵	0,647	3,4 .10 ⁻⁵	3,16.10 ²	0,098	10 .10 ⁴
3 . 10 ⁻⁵	13,8.10 ⁻⁵	0,546	2,87.10 ⁻⁵	5,76.10 ²	0,072	5,66.10 ⁴
2,5.10 ⁻⁵	11,5.10 ⁻⁵	0,470	2,47.10 ⁻⁵	1,68.10 ²		
Valeur moyenne de 1/K.....					Valeur moyennε d' ϵ_{Al_2C}	
Ecart-type.....					7.10 ⁴	

$$2,43 < pK < 2,73$$

Afin de confirmer la valeur de ΔpK entre BBP_{II} et VBC_{II} , nous avons mesuré le pK de ces deux colorants vis-à-vis de l'atropine. Les résultats sont reportés sur les tableaux XLI et XLII.

Les pK et ΔpK , calculés à l'aide de la valeur moyenne de K , sont :

Colorant	pK entre C_{II} et Diphénylguanidine	pK entre C_{II} et Atropine	ΔpK entre 2 colorants successifs (C_{II})
Bleu de bromophénol	4,99	4	
Vert de bromocrésol	3,69	2,6	} 1,3 - 1,4
Pourpre de bromocrésol	1,7		} 2

Les ΔpK entre les fonctions "acide faible" des colorants ont été étudiés, en 1933, par LAMER & DOWNES (26). Ces auteurs considèrent une constante de réaction K^* comparable à celles en usage dans les solvants dissociants :

$$K^* = \frac{(HB^+)(A^-)}{(B)(HA)} \quad (8)$$

(pK^* est d'autant plus faible que l'acide est plus fort).

Si les concentrations initiales en acide et en base sont égales et représentées par c , et si x est la concentration molaire en acide et en base combinés, la relation (81) devient

$$K^* = \frac{x^2}{(c - x)^2} \quad (8)$$

Or la véritable constante d'équilibre est :

$$K = \frac{(B)(HA)}{(BHA)} = \frac{(c-x)^2}{x}$$

(pK est d'autant plus grand que l'acide est plus fort).

La relation (82) s'écrit alors :

$$K^* = \frac{x}{K}$$

d'où :

$$pK^* = \log \frac{1}{x} - pK \quad (83)$$

La valeur de pK déterminée par LAMER et coll. est erronée puisqu'elle varie avec la concentration x en BHA.

En supposant cependant que la concentration en BHA soit peu différente au cours de l'étude de plusieurs acides, on pourrait écrire :

$$pK^* = pK_2^* - pK_1^* \approx pK_1 - pK_2 = -\Delta pK$$

Les pK* et ΔpK^* publiés par LAMER & DOWNES sont :

	pK*	ΔpK^*
- pourpre de bromocrésol	5,46	2,08
- vert de bromocrésol	3,38	0,16
- bleu de bromophénol	3,22	

Si l'ordre des colorants par acidités croissantes est le même que celui déduit de nos expériences, les ΔpK sont nettement différents.

Les auteurs n'indiquent pas les concentrations en colorant et en base de leurs solutions. Les écarts avec nos résultats

tats peuvent être dus à des différences dans les valeurs de (BHA) au cours de leurs expériences sur les différents colorants, à l'influence de la fonction acide fort, et à l'imprécision des techniques colorimétriques adoptées.

Sur l'échelle unique, les fonctions "acide faible" des différents colorants sont beaucoup plus éloignées les unes des autres que les fonctions "acide fort".

III - ΔpK entre les deux fonctions acides d'un même colorant

Nous avons déterminé le ΔpK entre acide salicylique et fonction acide faible du bleu de bromophénol (BBP_{II}), par la seconde méthode. Nous avons préparé dans le chloroforme RP une solution-mère suivant la formule :

Diphénylguanidine $10^{-3}M$	2 vol.
Bleu de bromophénol $10^{-3}M$	1 vol.
Acide salicylique $10^{-3}M$	1 vol.

Nous avons admis que la moitié de la base forte, soit 1 volume, était quantitativement combinée à la fonction acide fort du colorant, et que l'autre moitié était entièrement associée sous forme de paire d'ions, soit à l'acide salicylique, soit à la fonction acide faible du colorant. Nous pouvions alors utiliser la relation (80) pour le calcul de $K_{HA}/K_{HC_{II}}$, en donnant à (B_t) la moitié de la valeur réelle de la concentration en diphénylguanidine.

Nous avons opéré sur des dilutions croissantes de la solution-mère. Nous avons mesuré la densité optique D à 570 mμ ; le composé jaune, en forte concentration, présente une légère absorption à cette longueur d'onde ; aussi avons-nous calculé la concentration en composé foncé B₂H₂C à partir de la différence Δ D entre D et D₀, densité optique d'un témoin de même concentration en composé jaune, mais sans B₂H₂C ; dans les

TABLEAU XLIII

ΔpK entre ACIDE SALICYLIQUE et B.B.P. II

$(B_t) = (C_t) = (HA_t)$	D_{570}	D_{0570}	D_{570}	(B_{2H_2C})	K_2/K_1
$20 \cdot 10^{-5}$	0,885	0,070	0,815	$1,63 \cdot 10^{-5}$	127
$17,5 \cdot 10^{-5}$	0,888	0,065	0,823	$1,64 \cdot 10^{-5}$	92,9
$15 \cdot 10^{-5}$	0,810	0,063	0,747	$1,49 \cdot 10^{-5}$	81,8
$12,5 \cdot 10^{-5}$	0,584	0,060	0,524	$1,05 \cdot 10^{-5}$	119,4
$10 \cdot 10^{-5}$	0,406	0,057	0,349	$0,7 \cdot 10^{-5}$	178,1
$7,5 \cdot 10^{-5}$	0,330	0,054	0,276	$0,55 \cdot 10^{-5}$	157,8
$5 \cdot 10^{-5}$	0,194	0,050	0,144	$0,29 \cdot 10^{-5}$	267,7
Valeur moyenne de K_2/K_1					146,4
Ecart-type.....					15,0
$2,11 < \Delta pK < 2,20$					

conditions de l'expérience, D_0 varie entre 0,050 et 0,070. Pour calculer (B_2H_2C) , nous avons attribué à $\epsilon_{B_2H_2C}$ la valeur $5,1 \cdot 10^4$, déterminée sur le tableau XXXVIII.

Les résultats obtenus sont représentés sur le tableau XLIII. On trouve :

$$\Delta pK = 2,15$$

Sachant que le ΔpK entre la fonction acide fort du bleu de bromophénol et l'acide salicylique est 3,94 (tableau XXXVII) le ΔpK entre les deux fonctions acides du colorant est égal à $3,94 + 2,15 = 6,1$.

On peut, de proche en proche, à l'aide des tableaux précédents, calculer le ΔpK entre les deux fonctions des autres colorants ; on obtient :

<u>Colorant</u>	<u>ΔpK</u>
Bleu de bromophénol	6,1
Vert de bromocrésol	8
Pourpre de bromocrésol	9

La distance entre les deux fonctions acides d'un même colorant n'a pas été étudiée à notre connaissance ; on peut cependant la retrouver en groupant sur une échelle unique les résultats rapportés par différents auteurs et cités par CHARLOT et TREMILLON (4, p. 30, 31). Ceux de LAMER doivent à notre avis être écartés, leur définition du pK n'étant pas celle admise désormais. RUMEAU et TREMILLON (35) trouvent un pK de 3 environ pour le BBP_{II}

VBC_I
BBT_I
BBP_I
PBC_I

BBP_{II}

VBC_{II}

PBC_{II}

et de 7,5 pour le PBC_I , vis-à-vis de la n-butylamine ; sachant que le ΔpK entre PBC_I et BBP_I est égal à 0,35, on trouve entre les deux fonctions acides du bleu de bromophénol un ΔpK de 4,85. La valeur supérieure obtenue par notre méthode est en accord avec l'ensemble de nos résultats expérimentaux.

IV - pK entre alcaloïdes et fonction acide faible des colorants

Ces pK ont été déterminés par la première méthode, en faisant réagir les alcaloïdes sur la fonction acide faible du bleu de bromophénol à des concentrations variables ; nous avons évité l'emploi d'un grand excès d'alcaloïde, afin de ne pas faire apparaître les agrégats d'ions, et de maintenir le maximum d'absorption du composé jaune à 415 m μ . K a été calculé à l'aide de la relation (34). Le pK a été obtenu à partir de la valeur moyenne de $1/K$.

La plupart des mesures ont été effectuées dans des cuves de 1 cm d'épaisseur, à l'aide du spectrophotomètre Graphi-spectral Jouan. Cependant, dans le cas des alcaloïdes faiblement basiques, pour lesquels le colorant a dû être employé à concentration élevée, les mesures ont été effectuées dans des cuves de 0,5 cm d'épaisseur, sur un spectrophotomètre BECKMAN.

Les tableaux XLIV à LIII indiquent les résultats obtenus dans le chloroforme RP. La précision des déterminations de pK est d'autant meilleure que l'alcaloïde est plus basique. Avec certains alcaloïdes faiblement basiques, tels que la pilocarpine, la scopolamine, l'arécoline, la papavérine, la coloration foncée est trop faible pour permettre la mesure du pK ; celui-ci est voisin de 1. Il n'a pas été possible de mesurer le pK des deux fonctions basiques fortes de l'émétine, qui donnent simultanément le composé foncé.

pk entre B.B.P. II et SPARTEINE I

x	n	D ₄₁₅	(AIC)	1/K	D ₆₀₅	ϵ_{Al_2C}
2.10 ⁻⁵	5,32.10 ⁻⁵	0,330	1,35.10 ⁻⁵	7,13.10 ⁴	0,660	10,1.10 ⁴
1,8.10 ⁻⁵	4,78.10 ⁻⁵	0,316	1,29.10 ⁻⁵	5,77.10 ⁴	0,506	10.10 ⁴
1,6.10 ⁻⁵	4,25.10 ⁻⁵	0,292	1,19.10 ⁻⁵	5,23.10 ⁴	0,434	10,7.10 ⁴
1,4.10 ⁻⁵	3,72.10 ⁻⁵	0,258	1,06.10 ⁻⁵	5,63.10 ⁴	0,355	10,3.10 ⁴
1,2.10 ⁻⁵	3,19.10 ⁻⁵	0,228	0,93.10 ⁻⁵	5,44.10 ⁴	0,320	11,6.10 ⁴
10 ⁻⁵	2,66.10 ⁻⁵	0,194	0,79.10 ⁻⁵	5,68.10 ⁴	0,210	10,2.10 ⁴
Valeur moyenne de 1/K.....				5,55.10 ⁴	Valeur moyenne d' ϵ_{Al_2C}	
Ecart-type.....				0,67.10 ⁴	10,5.10 ⁴	
$4,69 < pK < 4,79$						

TABLEAU XLV

pk entre B.B.P. I et QUINIDINE I

x	n	D ₄₁₅	(AIC)	1/K	D ₅₉₀	ϵ_{Al_2C}
2,08.10 ⁻⁵	6,08.10 ⁻⁵	0,370	1,51.10 ⁻⁵	2,80.10 ⁴	0,242	4,25.10 ⁴
1,87.10 ⁻⁵	5,47.10 ⁻⁵	0,334	1,36.10 ⁻⁵	3,09.10 ⁴	0,201	3,94.10 ⁴
1,66.10 ⁻⁵	4,86.10 ⁻⁵	0,304	1,24.10 ⁻⁵	3,04.10 ⁴	0,186	4,42.10 ⁴
1,45.10 ⁻⁵	4,25.10 ⁻⁵	0,274	1,12.10 ⁻⁵	2,89.10 ⁴	0,156	4,72.10 ⁴
1,24.10 ⁻⁵	3,64.10 ⁻⁵	0,242	0,99.10 ⁻⁵	2,77.10 ⁴	0,128	5,12.10 ⁴
Valeur moyenne de 1/K.....				2,9 .10 ⁴	Valeur moyenne d' ϵ_{Al_2C}	
Ecart-type.....				0,13.10 ⁴	4,5.10 ⁴	

4,44 < pK < 4,48

T A B L E A U XLVI

pK entre B.B.P._{II} et CINCHONIDINE_I

x	n	D ₄₁₅	(A1C)	1/K	D ₅₆₀	ϵ_{Al_2C}
1,87.10 ⁻⁵	5,47.10 ⁻⁵	0,328	1,34.10 ⁻⁵	3,29.10 ⁴	0,222	4,18.10 ⁴
1,66.10 ⁻⁵	4,86.10 ⁻⁵	0,288	1,18.10 ⁻⁵	3,84.10 ⁴	0,194	4,04.10 ⁴
1,45.10 ⁻⁵	4,25.10 ⁻⁵	0,262	1,07.10 ⁻⁵	3,66.10 ⁴	0,162	4,26.10 ⁴
1,24.10 ⁻⁵	3,64.10 ⁻⁵	0,234	0,959.10 ⁻⁵	3,33.10 ⁴	0,112	3,86.10 ⁴
1,04.10 ⁻⁵	3,04.10 ⁻⁵	0,204	0,836.10 ⁻⁵	3,22.10 ⁴	0,088	4,31.10 ⁴
Valeur moyenne de 1/K..... 3,5 .10 ⁴						
Ecart-type..... 0,24.10 ⁴						
Valeur moyenne d' ϵ_{Al_2C} 4,1.10 ⁴						

4,51 < pK < 4,57

pk entre B.B.P. II et ACONITINE

x	n	D ₄₁₅	(AIC)	1/K	D ₆₁₀	ε _{Al₂C}
4 . 10 ⁻⁵	34 . 10 ⁻⁵	0,742	3,04 . 10 ⁻⁵	1,26 . 10 ³	0,914	9,52 . 10 ⁴
3,6 . 10 ⁻⁵	30,6 . 10 ⁻⁵	0,686	2,81 . 10 ⁻⁵	1,24 . 10 ³	0,702	8,88 . 10 ⁴
3,2 . 10 ⁻⁵	27,2 . 10 ⁻⁵	0,594	2,43 . 10 ⁻⁵	1,58 . 10 ³	0,600	7,79 . 10 ⁴
2,8 . 10 ⁻⁵	23,8 . 10 ⁻⁵	0,520	2,13 . 10 ⁻⁵	1,79 . 10 ³	0,500	7,46 . 10 ⁴
2,4 . 10 ⁻⁵	20,4 . 10 ⁻⁵	0,454	1,86 . 10 ⁻⁵	1,92 . 10 ³	0,436	8,07 . 10 ⁴
2 . 10 ⁻⁵	17 . 10 ⁻⁵	0,394	1,61 . 10 ⁻⁵	1,92 . 10 ³	0,300	7,69 . 10 ⁴
Valeur moyenne de 1/K.....				1,6 . 10 ³	Valeur moyenne d'ε _{Al₂C}	
Ecart-type.....				0,28 . 10 ³	8 . 10 ⁴	

4,12 < pK < 4,28

TABLEAU XLVIII

pK entre B.B.P. et EPHEDRINE

x	n	D ₄₁₅	(AIC)	1/K	D ₆₁₀	$\epsilon_{Al_2O_3}$
4 . 10 ⁻⁵	11,76 . 10 ⁻⁵	0,680	2,78 . 10 ⁻⁵	1,72 . 10 ⁴	0,956	7,8 . 10 ⁴
3,6 . 10 ⁻⁵	10,58 . 10 ⁻⁵	0,624	2,55 . 10 ⁻⁵	1,76 . 10 ⁴	0,780	7,4 . 10 ⁴
3,2 . 10 ⁻⁵	9,40 . 10 ⁻⁵	0,568	2,40 . 10 ⁻⁵	1,51 . 10 ⁴	0,584	7,3 . 10 ⁴
2,8 . 10 ⁻⁵	8,23 . 10 ⁻⁵	0,532	2,18 . 10 ⁻⁵	1,41 . 10 ⁴	0,462	7,45 . 10 ⁴
2,4 . 10 ⁻⁵	7,05 . 10 ⁻⁵	0,476	1,95 . 10 ⁻⁵	1,28 . 10 ⁴	0,312	6,9 . 10 ⁴
2 . 10 ⁻⁵	5,88 . 10 ⁻⁵	0,382	1,56 . 10 ⁻⁵	1,96 . 10 ⁴	0,308	7 . 10 ⁴
Valeur moyenne de 1/K.....				1,6 . 10 ⁴	Valeur moyenne d' $\epsilon_{Al_2O_3}$	
Ecart-type.....				0,23 . 10 ⁴	7,3 . 10 ⁴	

4,13 < pK < 4,26

x	n	D ₄₁₅	(AIC)	1/K	D ₅₆₀	ϵ_{Al_2C}
2,7.10 ⁻⁵	16,63.10 ⁻⁵	0,586	2,36.10 ⁻⁵	1,3.10 ³	0,150	4,4.10 ⁴
2,4.10 ⁻⁵	14,78.10 ⁻⁵	0,530	2,17.10 ⁻⁵	1,8.10 ³	0,130	5,6.10 ⁴
2,1.10 ⁻⁵	12,93.10 ⁻⁵	0,464	1,90.10 ⁻⁵	1,2.10 ³	0,072	3,6.10 ⁴
1,8.10 ⁻⁵	11,08.10 ⁻⁵	0,412	1,68.10 ⁻⁵	10 ³	0,054	4,5.10 ⁴
1,5.10 ⁻⁵	9,24.10 ⁻⁵	0,340	1,39.10 ⁻⁵	1,2.10 ³	0,048	4,3.10 ⁴
Valeur moyenne de 1/K.....					Valeur moyenne d' ϵ_{Al_2C}	
Ecart-type.....					4,5.10 ⁴	
$3,01 < pK < 3,19$						

T A B L E A U L

pK entre B.B.P._{II} et PROCAINE

x	n	D ₄₁₅ *	(ALC)	1/K	D ₅₉₅	ε _{Al₂C}
6,48.10 ⁻⁵	49,68.10 ⁻⁵	1,230	5,04.10 ⁻⁵	8,09.10 ²	0,510	3,54.10 ⁴
5,76.10 ⁻⁵	44,16.10 ⁻⁵	1,235	4,65.10 ⁻⁵	7,57.10 ²	0,415	3,73.10 ⁴
5,04.10 ⁻⁵	38,64.10 ⁻⁵	1,020	4,18.10 ⁻⁵	7,42.10 ²	0,345	4,01.10 ⁴
4,32.10 ⁻⁵	33,12.10 ⁻⁵	0,860	3,52.10 ⁻⁵	9,59.10 ²	0,250	3,13.10 ⁴
3,60.10 ⁻⁵	27,60.10 ⁻⁵	0,720	2,95.10 ⁻⁵	11,1.10 ²	0,200	3,07.10 ⁴
Valeur moyenne de 1/K....					Valeur moyenne d'ε _{Al₂C}	
Ecart-type.....					3,5.10 ⁴	
2,86 < pK < 3,00						

* Les mesures ont été effectuées sur un spectrophotomètre JEAN & CONSTANT

TABLEAU LI

pK entre B.B.P._{II} et ETHYLMORPHINE

X	n	D ₄₁₅ *	(A1C)	1/K	D ₅₆₀	ε Al ₂ C
7 .10 ⁻⁵	57 .10 ⁻⁵	2 × 0,725	5,94.10 ⁻⁵	4,25.10 ²	0,225	4,24.10 ⁴
6,3.10 ⁻⁵	51,3.10 ⁻⁵	2 × 0,655	5,36.10 ⁻⁵	4,64.10 ²	0,192	4,08.10 ⁴
5,6.10 ⁻⁵	45,6.10 ⁻⁵	2 × 0,595	4,87.10 ⁻⁵	4,45.10 ²	0,161	4,41.10 ⁴
4,9.10 ⁻⁵	39,9.10 ⁻⁵	2 × 0,518	4,24.10 ⁻⁵	5,28.10 ²	0,123	3,72.10 ⁴
4,2.10 ⁻⁵	34,2.10 ⁻⁵	2 × 0,448	3,67.10 ⁻⁵	5,71.10 ²	0,100	3,77.10 ⁴
Valeur moyenne de 1/K..... 5 .10 ²					Valeur moyenne d'ε Al ₂ C	
Ecart-type..... 0,55.10 ²					4.10 ⁴	
2,64 < pK < 2,74						

* Les mesures ont été effectuées dans une cuve de 0,5 cm d'épaisseur, sur un spectrophotomètre BECKMAN

TABLEAU LII

pK entre B.B.P._{II} et CODEINE

x	n	D ₄₁₅ *	(AIC)	1/K	D ₅₆₅	ϵ_{Al_2C}
7,2 .10 ⁻⁵	57,2 .10 ⁻⁵	2 x 0,797	6,12.10 ⁻⁵	4,22.10 ²	0,480	4,44.10 ⁴
6,48.10 ⁻⁵	51,48.10 ⁻⁵	2 x 0,700	5,73.10 ⁻⁵	3,46.10 ²	0,390	5,2 .10 ⁴
5,76.10 ⁻⁵	45,76.10 ⁻⁵	2 x 0,620	5,08.10 ⁻⁵	3,98.10 ²	0,320	4,7 .10 ⁴
5,04.10 ⁻⁵	40,04.10 ⁻⁵	2 x 0,545	4,46.10 ⁻⁵	4,42.10 ²		
4,32.10 ⁻⁵	34,32.10 ⁻⁵	2 x 0,477	3,91.10 ⁻⁵	4,14.10 ²	0,195	4,75.10 ⁴
3,6 .10 ⁻⁵	28,6 .10 ⁻⁵	2 x 0,400	3,27.10 ⁻⁵	4,74.10 ²	0,155	4,69.10 ⁴
Valeur moyenne de 1/K.....				4,16.10 ²	Valeur moyenne d' ϵ_{Al_2C}	
Ecart-type.....				0,39.10 ²	4,8.10 ⁴	
2,57< pk < 2,65						

* Les mesures ont été effectuées dans une cuve de 0,5 cm d'épaisseur, sur un spectrophotomètre BECKMAN.

TABLEAU LIII

pK entre B.B.P._{II} et ESERINE

x	n	D ₄₁₅ *	(A1C)	1/K
7 . 10 ⁻⁵	57 . 10 ⁻⁵	2 x 0,777	6,37 . 10 ⁻⁵	2,33 . 10 ²
6,3 . 10 ⁻⁵	51,3 . 10 ⁻⁵	2 x 0,732	6 . 10 ⁻⁵	1,3 . 10 ²
5,6 . 10 ⁻⁵	45,6 . 10 ⁻⁵	2 x 0,663	5,4 . 10 ⁻⁵	1,08 . 10 ²
4,9 . 10 ⁻⁵	39,9 . 10 ⁻⁵	2 x 0,582	4,77 . 10 ⁻⁵	0,9 . 10 ²
4,2 . 10 ⁻⁵	34,2 . 10 ⁻⁵	2 x 0,502	4,11 . 10 ⁻⁵	0,85 . 10 ²
3,5 . 10 ⁻⁵	28,5 . 10 ⁻⁵	2 x 0,407	3,34 . 10 ⁻⁵	0,24 . 10 ²
Valeur moyenne de 1/K.... 1,5 . 10 ²				
Ecart-type..... 0,73 . 10 ²				
1,88 < pK < 2,34				

* Les mesures ont été effectuées dans une cuve de 0,5 cm d'épaisseur, sur un spectrophotomètre BECKMAN.

dans le chloroforme

..... Narcéine

{ Papaverine
Pilocarpine
Scopolamine
Arecoline
Yohimbine }

..... Esérine

..... Codéine, diamorphine
..... Ethylmorphine
..... Procaïne
..... Strychnine I

..... Atropine

..... Ephedrine, aconitine
..... Quinine I
..... Spartéine I
..... Diphénylguanidine

dans l'eau

..... Narcéine

..... Papaverine

..... Pilocarpine

..... Esérine, éthylmorphine
..... Codéine
..... Strychnine, quinine
..... Aconitine

..... Procaïne

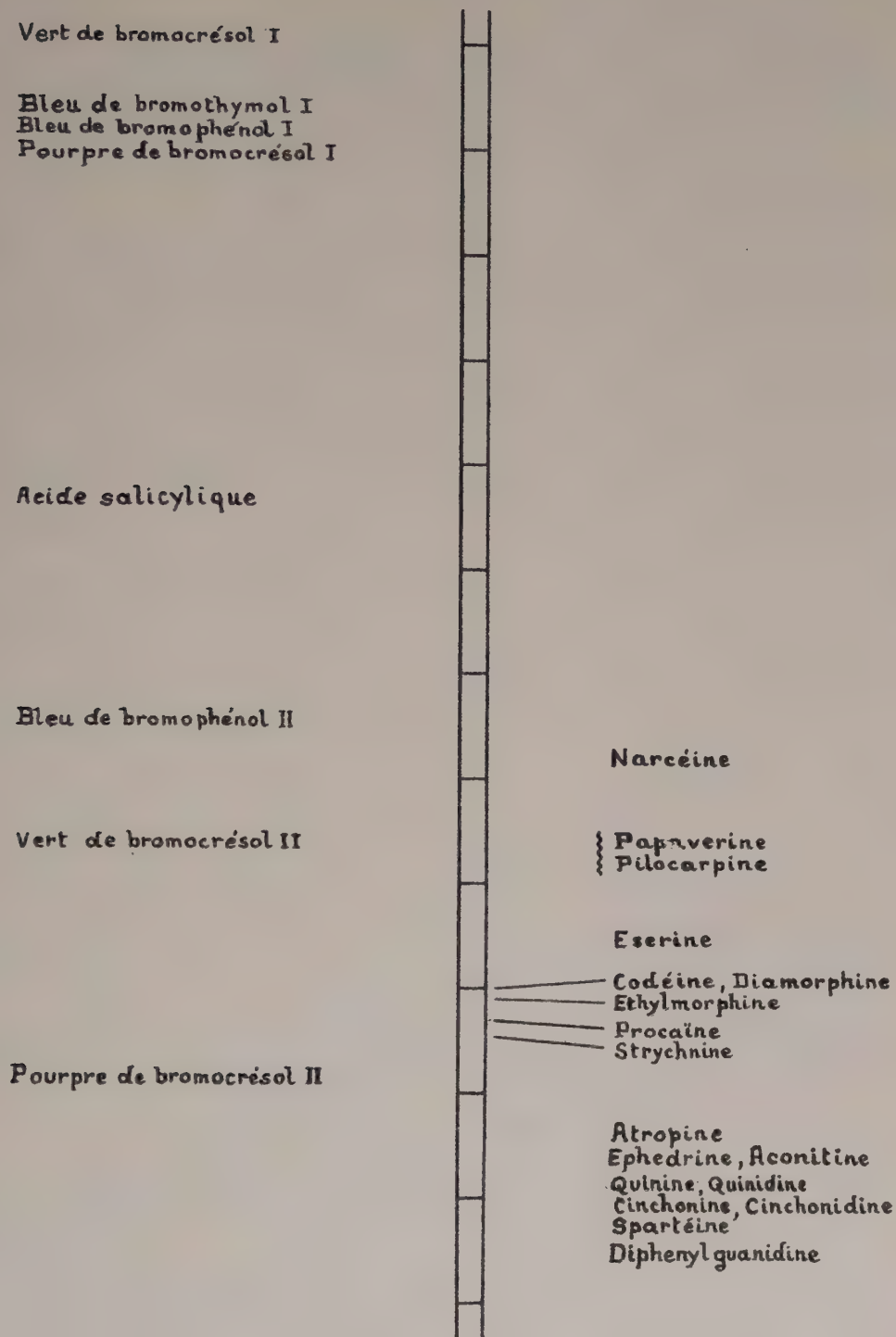
..... Ephedrine
..... Atropine

L'échelle des pK des alcaloïdes par rapport à BBP_{II} est représentée sur la figure 58, en comparaison avec l'échelle des pK_A dans l'eau déterminée par KOLTHOFF en 1925 (24) ; l'ordre des basicités croissantes n'est pas rigoureusement le même sur les deux échelles ; ces légères divergences peuvent s'expliquer, d'une part par les erreurs expérimentales, d'autre part par l'influence des facteurs stériques, qui diffère suivant que les solvants sont dissociants ou non dissociants ; ainsi la cocaïne, base assez forte en milieu aqueux ($pK_A = 8,41$), se comporte dans le chloroforme comme une base très faible vis-à-vis du BBP_{II} ; il n'est pas possible de mesurer son pK .

C - CONSTRUCTION DE L'ECHELLE UNIQUE

En réunissant les valeurs de pK et de ΔpK déterminées expérimentalement, nous avons pu construire une échelle unique dans le chloroforme, groupant les principaux alcaloïdes et les deux fonctions acides des quatre colorants étudiés. Cette échelle est représentée sur la figure 59. Elle permet de prévoir la précision et la sensibilité des dosages volumétriques et colorimétriques des alcaloïdes par les colorants.

Figure 59



ECHELLE UNIQUE D ACIDITÉ-BASICITÉ

— en milieu peu dissociant

CHAPITRE VI

ETUDE DES METHODES DE DOSAGE DES ALCALOIDES A L'AIDE DES COLORANTS DERIVES DE LA PHENOLSULFONEPHTHALEINE EN MILIEU PEU DISSOCIANT

L'étude théorique des réactions (chapitre III) a permis de poser les principes d'un dosage volumétrique et d'un dosage colorimétrique des alcaloïdes par les colorants dérivés de la phénolsulfonephtaléine en milieu peu dissociant ; nous nous proposons d'étudier sur le plan théorique et sur le plan pratique la précision et la spécificité de ces dosages.

- DOSAGE VOLUMETRIQUE

Le colorant sert à la fois de réactif titrant par sa fonction acide fort, et d'indicateur par sa fonction acide faible.

a) Précision et sensibilité du dosage

L'erreur sur le dosage peut être calculée à l'aide de la formule (11) où $c = i$. Le tableau VII permet d'apprécier les limites de la concentration entre lesquelles la méthode est applicable, en supposant que la valeur moyenne de ϵ_{Al_2C} soit $5 \cdot 10^{-4}$. Ces limites dépendent de trois facteurs :

- ΔpK entre les deux fonctions acides du colorant ;
- pK_{ind} entre alcaloïde et seconde fonction acide du colorant ;
- propriétés physico-chimiques du solvant.

α - Limites attachées à la valeur de ΔpK

Le tableau VII indique, en fonction de ΔpK entre acide titrant et indicateur de type II, les limites de concentra-

tion pour lesquelles le dosage est possible avec une erreur inférieure à 1 %. ΔpK doit être d'autant plus grand que la concentration est plus élevée.

Pour le bleu de bromophénol ($\Delta pK = 6,1$), l'erreur sur le dosage est inférieure à 1 %, si la concentration en alcaloïde est plus petite que $10^{-2}M$. Elle augmente rapidement pour des concentrations plus élevées.

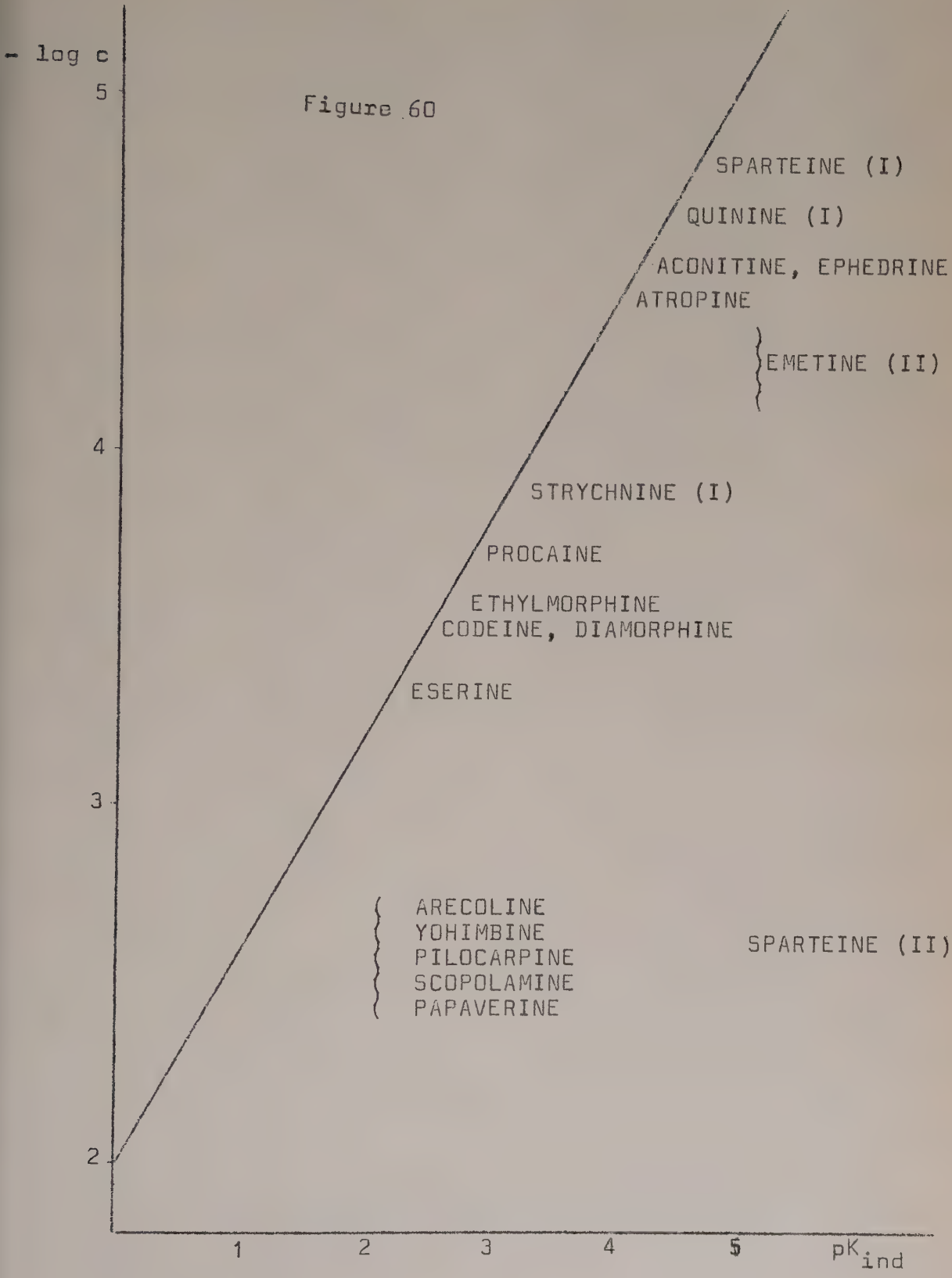
Dans le cas du vert de bromocrésol ($\Delta pK = 8$) et du pourpre de bromocrésol ($\Delta pK = 9$), l'erreur attachée à

ΔpK est encore négligeable sur des solutions M , mais on est alors limité par la solubilité des colorants et des alcaloïdes dans le solvant peu dissociant.

β - Limites attachées à la valeur de pK_{ind}

Ces limites peuvent encore se déduire du tableau VII. Contrairement à l'erreur attachée à ΔpK , l'erreur liée à pK_{ind} diminue quand la concentration augmente. Cette erreur est d'autant plus faible que pK_{ind} est plus grand. Des colorants étudiés, le plus sensible est donc le bleu de bromophénol, dont la seconde fonction acide est située le plus haut sur l'échelle unique. Viennent ensuite le vert de bromocrésol, le rouge de chlorophénol dont nous n'avons effectué qu'une étude qualitative à cause de sa faible solubilité dans les solvants non dissociants, et le pourpre de bromocrésol qui ne peut être employé qu'en solution concentrée et dans le cas des bases très fortes.

La figure 60, construite à partir de la formule (11), du tableau VII et des tableaux XLIV à LIII indique approximativement pour chaque alcaloïde en fonction du pK_{ind} , la limite inférieure de concentration à partir de laquelle le dosage est possible à l'aide du bleu de bromophénol, avec une précision égale ou supérieure à 99 % ; précisons qu'il s'agit de la concentration totale en alcaloïde au moment du virage ;



les calculs sont effectués en donnant à ϵ_{Al_2C} la valeur moyenne 5.10^4 ; la limite de concentration doit donc être légèrement diminuée lorsque la valeur réelle d' ϵ_{Al_2C} est supérieure à 5.10^4 (aconitine, éphédrine, spartéine) légèrement augmentée dans le cas inverse (procaïne, éthylmorphine, quinidine) ; en pratique les variations d' ϵ_{Al_2C} d'un alcaloïde à l'autre ont peu d'influence sur la précision du dosage.

En règle générale, nous avons dosé la plupart des alcaloïdes en solution $10^{-3}M$ environ par le bleu de bromophénol à même concentration. Nous avons utilisé des solutions $10^{-2}M$ dans le cas d'alcaloïdes faiblement basiques, tels que pilocarpine, scopolamine, yohimbine, papavérine.

γ - Choix du solvant

Le choix du solvant est guidé, d'une part par son pouvoir dissolvant vis-à-vis de l'alcaloïde, du colorant et des composés colorés. AlC et Al_2C , d'autre part par ses propriétés acido-basiques qui peuvent influencer sur la précision et la spécificité du dosage (chapitre I).

- Pouvoir dissolvant :

Le chloroforme, le dioxanne, le tétrahydrofuranne, l'acétate d'éthyle sont de bons solvants des alcaloïdes, des colorants et de leurs composés d'addition. Par contre le pouvoir dissolvant de l'éther éthylique, du méthylal, du benzène est moindre, en particulier vis-à-vis du composé foncé. Ainsi il apparaît un précipité rougeâtre lorsque l'on ajoute une solution $10^{-3}M$ de bleu de bromophénol à une solution d'atropine de même titre dans le benzène ou l'éther éthylique *.

* GULUBOV et KITOVA (19) ont basé un dosage de la quinine, la strychnine, la vératrine et la papavérine sur la précipitation quantitative de l'alcaloïde par le rouge de bromocrésol en excès ; le colorant resté en solution est dosé colorimétriquement.

- Propriétés acido-basiques :

Le solvant peut influencer sur la précision du dosage par sa basicité ou son acidité.

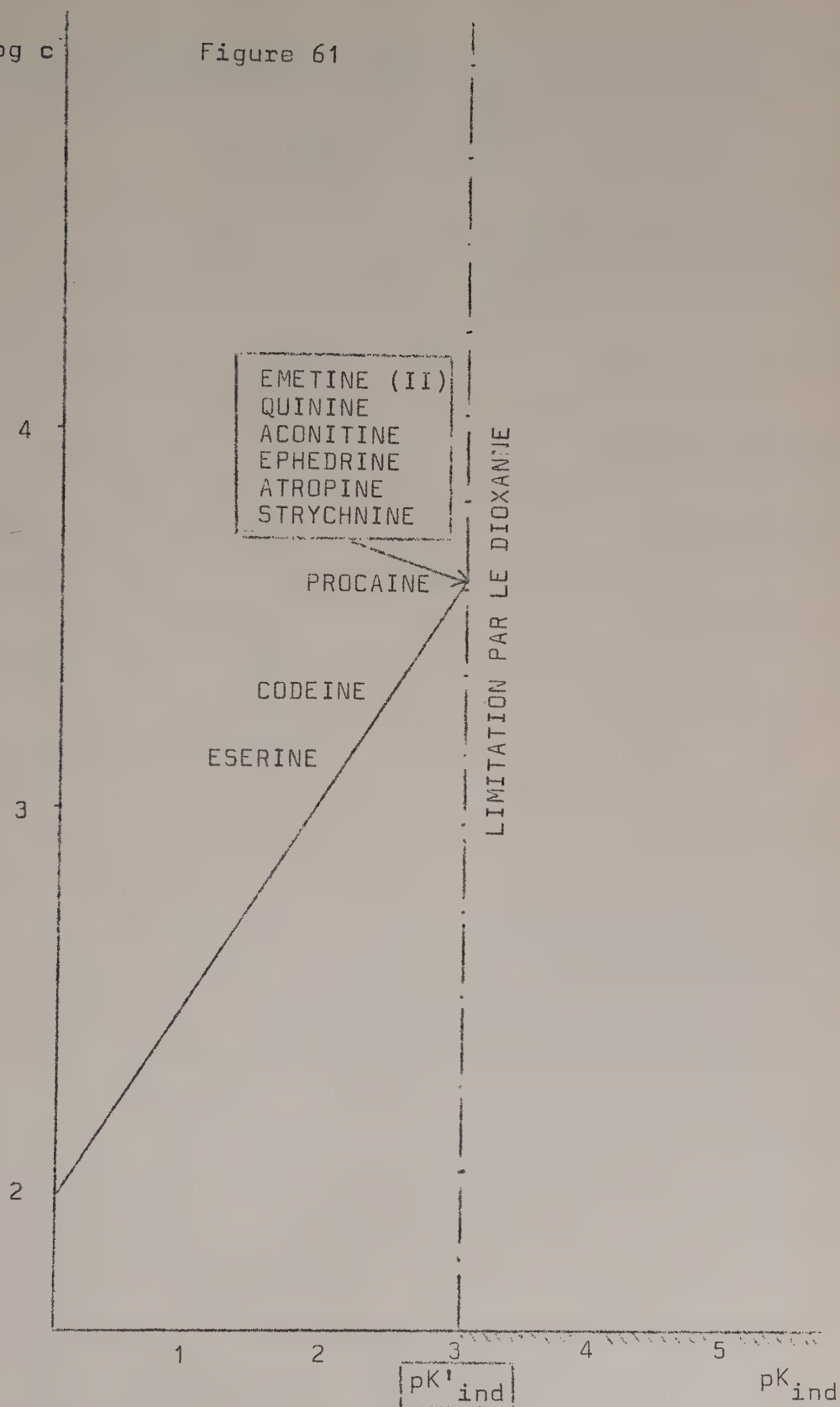
Un solvant basique peut diminuer la valeur apparente de ΔpK , lorsqu'il limite l'échelle d'acidité au-dessous de la fonction acide fort du colorant. Tel est par exemple le cas de la pyridine, dans laquelle le dosage est impossible. Cependant la plupart des solvants non dissociants des alcaloïdes ne limitent l'échelle d'acidité que nettement au-dessus de la fonction acide fort du bleu de bromophénol, comme nous l'avons montré dans le chapitre IV ; ils ne modifient donc pas la valeur de ΔpK .

Un solvant acide peut diminuer la valeur apparente de pK_{ind} , quand il limite l'échelle de basicité au-dessus de l'alcaloïde. Ainsi dans le dioxanne, solvant légèrement acide qui limite l'échelle unique à 3 unités pK environ au-dessous de B.B.P._{II}, les alcaloïdes dont le pK_{ind} est supérieur à 3 dans les solvants inertes ont tous le même pK'_{ind} , voisin de 3 ; leur dosage perd donc en précision. La figure 61, déduite de la figure 60, indique pour chaque alcaloïde, en fonction du pK_{ind} , la limite inférieure de concentration pour laquelle la précision du dosage volumétrique par le B.B.P. est supérieure à 99 % dans le dioxanne ; cette limite est de l'ordre de $0,5 \cdot 10^{-3} M$ pour tous les alcaloïdes situés au-dessous de la procaine sur l'échelle unique. On arrive à des conclusions analogues dans le cas du méthylal et du tétrahydrofuranne.

La limitation de l'échelle unique par l'acidité de l'acide acétique est située au-dessus de B.B.P._{II} ; le dosage volumétrique est donc impossible dans ce solvant.

- log c

Figure 61



Les caractères des différents solvants non dissociants étudiés sont résumés dans le tableau LIV.

T A B L E A U L I V

	Pouvoir dissolvant	Abaisssement du pK_{ind}	Abaisssement du pK
benzène	faible		
chlorobenzène	faible		
ether éthylique	faible		
tetrahydrofuranne	fort	++	
oxanne	fort	++	
éthylal	moyen	++	
acétate d'éthyle	fort	+	
chloroforme	fort		
acide acétique	fort	++++	
pyridine	fort		+++
solvant de GYENES	fort	+	
phénol : 20 % dans CCl_4)			

Les meilleurs solvants pour le dosage volumétrique sont donc le chloroforme, le solvant de GYENES et l'acétate d'éthyle ; nous avons employé en général le chloroforme RP (+ 0,5 % d'éthanol), exempt d'acide chlorhydrique. Il est recommandé de préparer la solution titrée de colorant peu de temps avant l'emploi, car celui-ci semble catalyser la décomposition du chloroforme. Nous avons utilisé le solvant de GYENES pour doser les alcaloïdes peu solubles dans le chloroforme : morphine, gluco-alcaloïdes.

b) Spécificité du dosage volumétrique

Toute impureté basique se trouvant dans la solution à une concentration inférieure à 10^{-3} M et située à 5 unités pK au moins au-dessus de l'alcaloïde à doser sur l'échelle unique n'influe pratiquement pas sur le dosage. (tableaux VII et IX)

Cette spécificité se manifeste en particulier à l'égard de la fonction basique faible d'alcaloïdes bibasiques : strychnine, brucine, quinine, cinchonine, pilocarpine, procaine qui se comportent comme des bases simples en solution 10^{-3} M. Par contre l'émétine, dont les deux fonctions basiques sont fortes, est dosée comme une base double. Le cas de la spartéine est assez démonstratif de l'influence de la concentration ; son équivalent vis-à-vis du bleu de bromophénol est la mole en solution 10^{-4} M, la demi-mole en solution 10^{-2} M.

c) Comparaison avec les autres dosages protométriques des alcaloïdes

Le dosage protométrique des alcaloïdes et des bases organiques, en milieu peu dissociant, est couramment pratiqué ; les solvants les plus employés sont l'acide acétique ou les solvants inertes.

- Dosages dans l'acide acétique

L'acide acétique est fréquemment utilisé pour le dosage protométrique des alcaloïdes ; l'acide titrant est le plus souvent l'acide perchlorique ; le point d'équivalence est déterminé soit potentiométriquement, soit à l'aide d'un indicateur coloré : violet cristal, violet de méthyle, α -naphthol-benzéine (4, p. 227, 15, 17, etc).

Cette méthode présente deux avantages : l'acide acétique est un excellent solvant de tous les alcaloïdes ; la précision du dosage est très bonne, surtout si le titrage est sui-

vi par potentiométrie. Par contre cette méthode manque de spécificité car elle dose, au même titre que les alcaloïdes tous les produits organiques ou minéraux basiques solubles dans l'acide acétique sous forme d'acétates ; lorsque le dosage est effectué en présence d'un indicateur coloré, toutes les substances basiques situées au-dessous du niveau de cet indicateur sur l'échelle unique apportent une erreur par excès. D'autre part la préparation du réactif titrant est assez longue et désagréable, l'acide perchlorique n'existant dans le commerce qu'en solution aqueuse (25, t. I, p. 481-2)

β - Dosages dans les solvants inertes

On a employé le benzène, le chlorobenzène, le chloroforme, le dioxanne, etc... L'acide titrant est souvent l'acide p.toluène-sulfonique ou l'acide picrique (13, 14, 20, 34, 41, 42, 43, 46, 47, 48, etc...) . L'indicateur est en général le jaune de méthyle. Ces méthodes sont précises et nettement plus spécifiques que les précédentes, qui emploient un solvant acide ; cependant l'acide p.toluène-sulfonique, hygroscopique, ne peut être pesé exactement : il est nécessaire d'ajuster la solution titrée par rapport à une solution standard, par exemple de diphénylguanidine.

γ - Comparaison du dosage par le B.B.P. avec les méthodes citées

La méthode au bleu de bromophénol offre certains avantages par rapport aux précédentes :

- la préparation du réactif titrant s'effectue directement par pesée du produit commercial sec, qui est pur et non hygroscopique ; elle est donc simple et rapide ;

- la méthode gagne en spécificité par rapport aux précédentes à l'égard des impuretés basiques : l'indicateur est situé beaucoup plus bas sur l'échelle unique que le violet

de méthyle et les autres colorants utilisés dans l'acide acétique ; il est de type II, et non de type I comme le jaune de méthyle ; seules les impuretés très basiques, peuvent donc influencer sur le dosage.

- enfin la disparition du composé foncé, dans une solution alcaloïdique assez concentrée ($10^{-2}M$ à $10^{-3}M$), colorée par des impuretés comme c'est souvent le cas pour les extraits végétaux, est beaucoup plus facile à percevoir que dans les techniques employant le jaune de méthyle : dans le premier cas la concentration en indicateur coloré est aussi comprise entre 10^{-2} et $10^{-3}M$; dans le second elle n'est que de $10^{-5}M$ environ.

Par contre la méthode au bleu de bromophénol présente un inconvénient sur les précédentes : elle ne peut être employée pour doser des solutions d'alcaloïdes de concentration supérieure à $10^{-2}M$, à cause de l'insuffisance du ΔpK entre les deux fonctions acides du colorant. De plus le composé foncé formé entre B.B.P. et certains alcaloïdes comme la morphine précipite à forte concentration. La méthode se prête donc plutôt aux microdosages.

En conclusion le dosage volumétrique par le bleu de bromophénol, en milieu peu dissociant, est simple, sensible et assez spécifique ; il convient pour le dosage de petites quantités d'alcaloïdes même incomplètement purifiés, extraits d'organes ou de tissus végétaux.

DOSAGE COLORIMETRIQUE

Ce dosage est basé sur la mesure de l'absorption, vers 415 mμ, du composé d'addition AlC qui se forme entre le colorant et l'alcaloïde en milieu peu dissociant.

a) Précision et sensibilité du dosage

Le coefficient d'extinction molaire du composé d'addition AlC est $2,44 \cdot 10^4$ lorsque le colorant est le bleu de bromophénol ou le pourpre de bromocrésol, et $1,90 \cdot 10^4$ pour le vert de bromocrésol et le bleu de bromothymol (chapitre V). Le loi de BEER permet de calculer les limites de concentration c en alcaloïde pour que la densité optique D soit comprise entre 0,05 et 1, c'est-à-dire propice à un dosage colorimétrique.

$$c = \frac{D}{\epsilon}$$

$$\left. \begin{array}{l} \text{BBP} \\ \text{PBC} \end{array} \right\} \frac{0,05}{2,44 \cdot 10^4} \leq c < \frac{1}{2,44 \cdot 10^4} ; 0,2 \cdot 10^{-5} < c < 4 \cdot 10^{-5} \quad (85)$$

$$\left. \begin{array}{l} \text{VBC} \\ \text{BBT} \end{array} \right\} \frac{0,05}{1,9 \cdot 10^4} < c < \frac{1}{1,9 \cdot 10^4} ; 0,25 \cdot 10^{-5} < c < 5 \cdot 10^{-5} \quad (86)$$

La concentration x de colorant, nécessaire pour obtenir une combinaison de 99 % de l'alcaloïde peut être évaluée en fonction du pK entre alcaloïde et colorant :

$$K = \frac{(HC) (B)}{(BHC)}$$

$$K = \frac{(x - (BHC)) (c - (BHC))}{(BHC)} = \frac{(x - 0,99 c) (0,01 c)}{0,99 c} = \frac{x - 0,99}{99}$$

$$x = 99 K + 0,99 c \quad (87)$$

La limite supérieure c_ℓ de la concentration en alcaloïde permettant le dosage colorimétrique est donnée par les relations (85) et (86) ; $c_\ell = 4.10^{-5}$ pour le BBP et le PBC ; $c_\ell = 5.10^{-5}$ pour le VBC et le BBT. En introduisant cette valeur dans la relation (87), on peut calculer la limite inférieure x_ℓ de la concentration en colorant qui permet de doser l'alcaloïde, en concentration c_ℓ , avec une précision de 99 %. Pour des concentrations en alcaloïde inférieures à c_ℓ et une même concentration x_ℓ en colorant, la précision du dosage est plus grande.

Le tableau LV représente les valeurs de x_ℓ , en fonction du pK entre alcaloïde et colorant, pour les quatre colorants étudiés :

TABLEAU LV

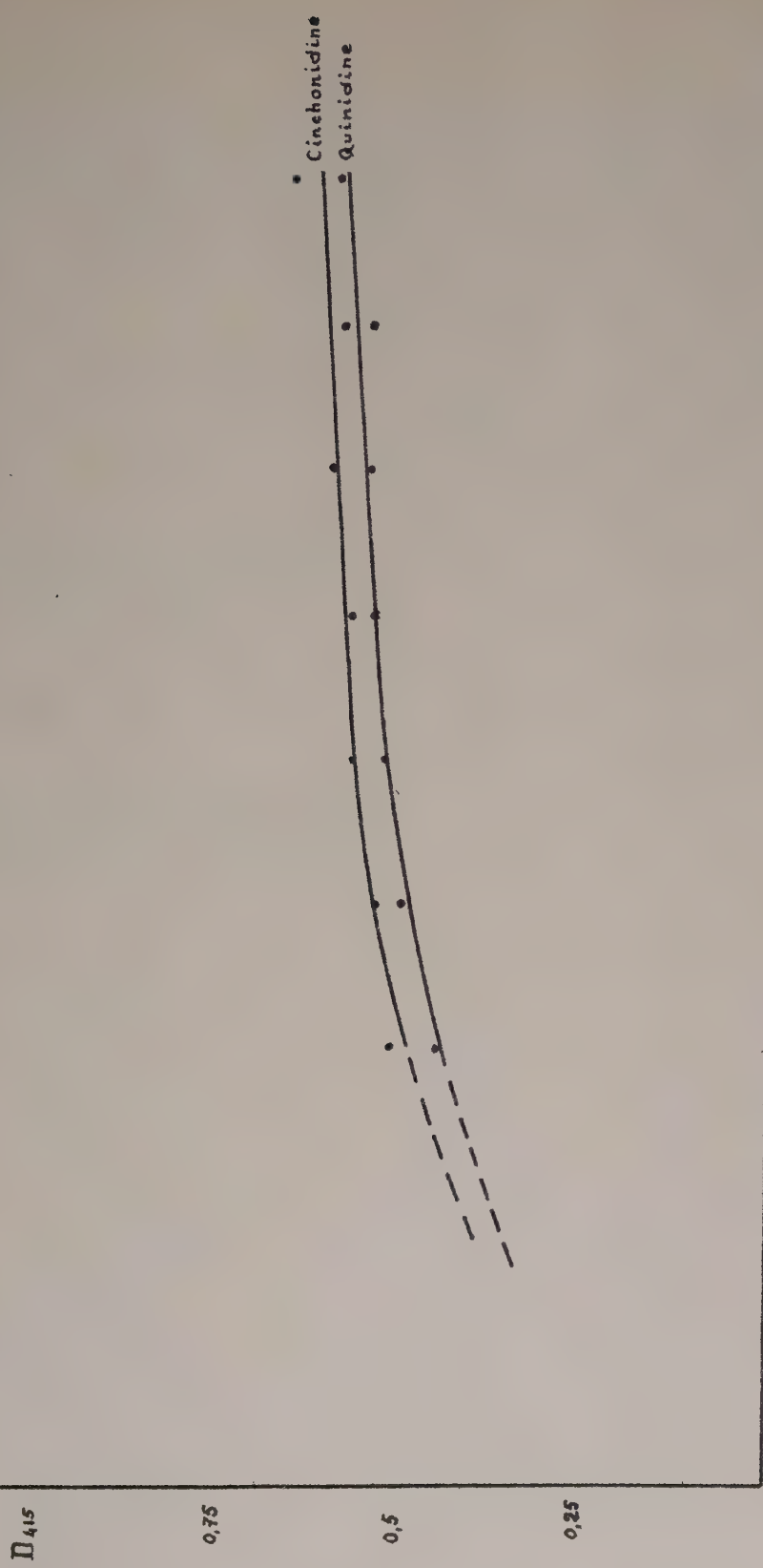
pK	Bleu de bromophénol	Vert de bromocrésol
	Pourpre de bromocrésol	Bleu de bromothymol
	$x_\ell = 99K + 3,96.10^{-5}$	$x_\ell = 99K + 4,95.10^{-5}$
9	$3,96.10^{-5}$	$4,95.10^{-5}$
8	$4,06.10^{-5}$	$5,05.10^{-5}$
7	$4,95.10^{-5}$	$5,94.10^{-5}$
6	$1,38.10^{-4}$	$1,48.10^{-5}$
5	$1,02.10^{-3}$	$1,08.10^{-5}$
4	$9,93.10^{-3}$	$9,95.10^{-5}$

En pratique il est préférable que la concentration en colorant ne soit pas supérieure à $2 \cdot 10^{-4}$, sinon la coloration due à la combinaison du colorant avec le solvant est gênante, même dans le chloroforme, et le colorant se dépose sur les parois de la cuve en verre du spectrophotomètre. Le dosage colorimétrique est donc applicable avec une précision de 99 % à tous les alcaloïdes dont le pK par rapport au colorant utilisé est égal ou supérieur à 6. Ainsi on peut doser par le bleu de bromophénol tous les alcaloïdes capables de s'associer avec sa fonction acide faible, c'est-à-dire de donner le composé foncé. Le vert de bromocrésol ou le bleu de bromothymol permettent de doser des bases situées plus haut sur l'échelle unique, mais la sensibilité du dosage, liée au coefficient d'absorption molaire est moindre de 20 %.

Par contre il n'est pas possible de doser colorimétriquement par le bleu de bromophénol les alcaloïdes comportant une fonction basique faible ($pK < 6$), qu'il s'agisse d'alcaloïdes monobasiques tels que narcéine, colchicine, alcaloïdes puriques, ou d'alcaloïdes dibasiques comme ceux des quinquinas, dont la fonction basique faible s'unit en partie au colorant (figure 62) ; dans le cas de la strychnine, de l'ésérine, de la procaïne et de la pilocarpine, la seconde fonction basique est trop faible pour s'associer au colorant de façon appréciable aux concentrations considérées ; ces alcaloïdes peuvent donc être dosés colorimétriquement comme s'ils étaient monobasiques.

Le dosage colorimétrique peut en théorie être effectué dans des solvants légèrement acides ou légèrement basiques ; dans le premier cas il faut employer un plus grand excès de colorant ; dans le second cas on applique la relation (74). En pratique nous avons employé des solutions $10^{-4} M$ de colorant dans des solvants inertes : benzène, chlorobenzène ou chloroforme RP.

Figure 62



Concentration en alcaloïde 10^{-5} 10^{-5} 10^{-5} 10^{-5} 10^{-5} 10^{-6}

Concentration en BBP $3 \cdot 10^{-4}$ $4 \cdot 10^{-4}$ $5 \cdot 10^{-4}$ $6 \cdot 10^{-4}$ $7 \cdot 10^{-4}$ $8 \cdot 10^{-4}$ $9 \cdot 10^{-4}$

Neutralisation partielle de la fonction basique faible d'alcaloïdes dibasiques

par un excès de colorant

Le tableau LVI représente en μg par ml les limites de concentrations des principaux alcaloïdes entre lesquelles le dosage colorimétrique par le bleu de bromophénol est possible. La précision est supérieure à 99 %.

T A B L E A U LVI

	Poids moléculaire	D = 0,05	D = 1
<u>ALCALOIDES comportant :</u>			
<u>deux fonctions ba-</u>			
<u>siques fortes</u>			
(pK > 6)			
EMETINE	480,63	0,48 $\mu\text{g/ml}$	9,6 $\mu\text{g/ml}$
SPARTEINE	234,37	0,23	4,7
<u>ALCALOIDES comportant :</u>			
<u>une fonction basique</u>			
<u>forte</u>			
ATROPINE	289,38	0,57	11,6
EPHEDRINE	165,23	0,33	6,6
COCAINE	303,35	0,6	12,13
ACONITINE	645,72	1,29	25,8
STRYCHNINE	334,4	0,67	13,3
CODEINE	299,36	0,6	12
ETHYLMORPHINE	313,36	0,62	12,5
DIAMORPHINE	369,4	0,74	14,8
ESERINE	275,34	0,55	11
PROCAINE	236,3	0,47	9,45
ARECOLINE	155,19	0,31	6,2
PILOCARPINE	208,25	0,42	8,3
SCOPOLAMINE	303,35	0,6	12,1
YOHIMBINE	354,43	0,53	10,6
PAPAVERINE	339,38	0,68	13,6

b) Spécificité du dosage

Toutes les impuretés basiques situées au-dessous de BBP_I sur l'échelle unique apportent au dosage une erreur par excès et ceci d'autant plus que leur concentration est plus forte et qu'elles sont plus basiques. Le dosage colorimétrique manque donc de spécificité.

c) Comparaison avec les autres dosages colorimétriques des alcaloïdes basée sur l'emploi de colorants acides

Nous n'avons pas retrouvé dans la littérature de méthodes de dosage colorimétrique direct des alcaloïdes à l'aide des colorants dérivés de la phénolsulfonephtaléine ; seul DAVIS en mentionne la possibilité (24) . Par contre plusieurs méthodes sont basées sur l'addition d'un de ces colorants à une solution aqueuse de sel d'alcaloïde amenée à un pH déterminé, et l'extraction par le benzène ou le chloroforme du composé d'addition formé entre colorant et alcaloïde. Certains auteurs (6, 7) déterminent ensuite la densité optique de la solution organique vers $410 \text{ m}\mu$; d'autres (40) extraient le colorant de cette phase organique par une solution aqueuse de soude ou de carbonate de sodium, où ils le dosent par colorimétrie vers $600 \text{ m}\mu$.

On a préconisé à côté des dérivés de la P.S.P. d'autres colorants acides : tropéolines, héliantine, etc... ; ces méthodes ont été étudiées par différents auteurs (voir (11)) ; elles présentent l'inconvénient de ne pas toujours être stœchiométriques, le rendement d'extraction du composé coloré par le solvant organique variant avec le pH de la solution aqueuse ; le pH optimum d'extraction n'est pas le même pour toutes les bases (18, 39) .

Le dosage colorimétrique direct des alcaloïdes par les colorants dérivés de la P.S.P., tel que nous le présentons, est général, puisqu'il s'effectue dans un solvant monophasique où tous les alcaloïdes sont assez solubles pour permettre leur dosage, et que la longueur d'onde d'absorption maxima et le coefficient d'absorption molaire sont indépendants de la nature de l'alcaloïde. Il est très sensible, permettant de doser des quantités d'alcaloïdes de l'ordre du μg . Mais son manque de spécificité nécessite la purification préalable de l'alcaloïde. Il peut être utile pour doser un alcaloïde après séparation chromatographique, sur papier ou sur couche mince, et élution.

En conclusion, le dosage volumétrique par le bleu de bromophénol est tout indiqué pour doser le bloc alcaloïdique extrait d'un échantillon végétal ; le dosage colorimétrique permet de doser les constituants de ce mélange après les avoir séparés par chromatographie.

CHAPITRE VII

ETUDE DES DOSAGES DANS LES SOLVANTS DISSOCIANTS

Les réactions sont plus complexes que dans les solvants peu dissociants ; à l'échelle des pK se substitue l'échelle des pK_A , qui permet de comparer le degré de dissociation des acides et des bases dans le solvant considéré. Après avoir étudié les réactions entre colorants et alcaloïdes dans les solvants dissociants, nous rechercherons si elles peuvent être appliquées aux dosages volumétriques ou colorimétriques des alcaloïdes.

I - Etude des réactions

Aux réactions d'association du colorant et de l'alcaloïde entre eux ou avec le solvant s'ajoutent les phénomènes de dissociation ionique :

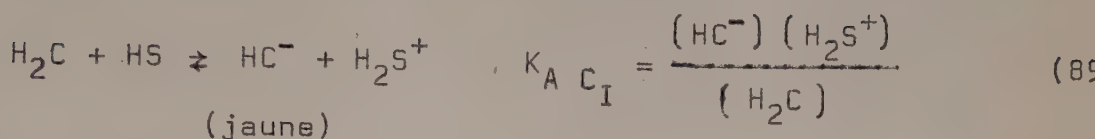
a) Dissociation ionique du solvant



Voici quelques valeurs de pK_i , d'après CHARLOT (4)

Solvant	pK_i
Eau	14
Méthanol	16,7
Ethanol	19,1

b) Dissociation ionique du colorant



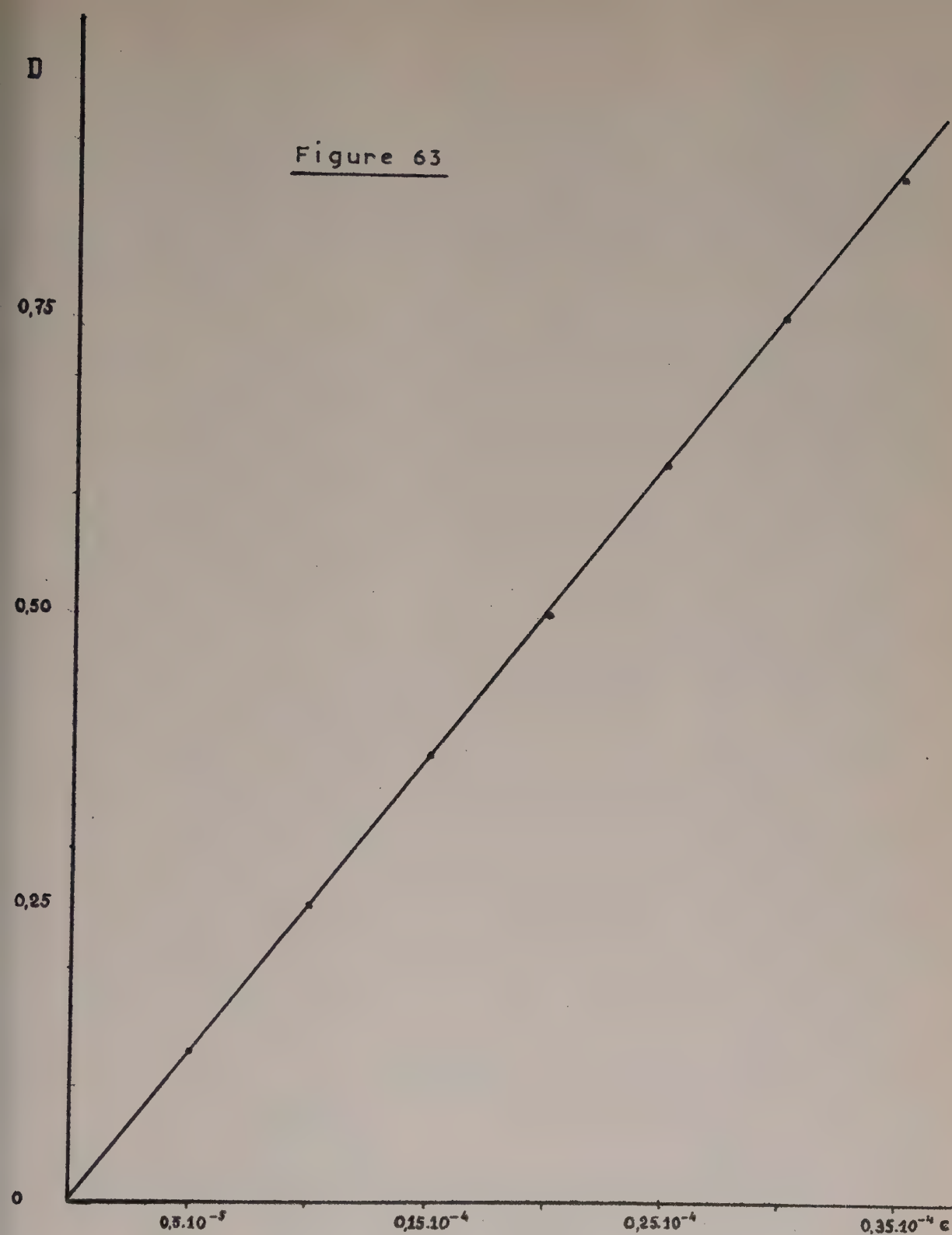
$$K_{A \text{ C}_I} > K_{A \text{ C}_{II}}$$

$$\text{ou } pK_{A \text{ C}_{II}} > pK_{A \text{ C}_I}$$

Les valeurs de $pK_{A \text{ C}_I}$ et $pK_{A \text{ C}_{II}}$ varient avec le pouvoir solvolysant du solvant, lié à sa basicité, et avec son pouvoir dissociant, qui dépend de sa constante diélectrique.

$pK_{A \text{ C}_I}$ est très petit, sauf dans les solvants très peu basiques ou peu dissociants ; nous n'avons pas trouvé d'indications concernant les valeurs de $pK_{A \text{ C}_I}$ des colorants étudiés. Dans la plupart des solvants dissociants couramment employés : eau, alcools, N-N.diméthylformamide, formamide, l'ionisation de la première fonction acide du colorant est pratiquement quantitative ; ainsi la figure 63 représente les variations de la densité optique à 425 mμ en fonction de la concentration molaire en bleu de bromophénol dans le méthanol ; si l'on admet que le coefficient d'absorption molaire de l'ion HC^- est voisin de celui de la paire d'ions BHC, soit de $2,5 \cdot 10^4$ dans le cas du B.B.P., on constate que pour les concentrations étudiées tout le colorant se trouve

Figure 63



METHANOL

(Courbe des concentrations croissantes en B.B.P.)

dans le méthanol sous forme d'ions HC^- . Le couple $\text{H}_2\text{C}/\text{HC}^-$ est donc situé sur l'échelle unique des pK_A au-dessus de la limitation par la basicité du solvant, et le véritable acide est l'ion H_2S^+ .

La fonction acide faible des colorants est par contre située nettement au-dessous de la limitation par la basicité des solvants courants. Les valeurs de $\text{pK}_\text{A C II}$ dans l'eau ont été déterminées par KOLTHOFF en 1924 (23) ;^{II} certaines ont été reprises par MARKHAM et coll. en 1951 (29) ; nous indiquons quelques résultats publiés par ces deux auteurs : (voir aussi tableau XV).

Colorant	KOLTHOFF	MARKHAM
Bleu de bromophénol	4,2	4,01
Vert de bromocrésol	4,9	4,76
Pourpre de bromocrésol	5,4	
Bleu de bromothymol	7,3	

Il est en principe possible de calculer la valeur de $\text{pK}_\text{A C II}$ dans un solvant quelconque, en retranchant du $\text{pK}_\text{A C II}$ dans l'eau une valeur pK_S liée à ce solvant (4) :

Solvant	$\text{pK}_\text{S} (\text{HA}/\text{A}^-)$
Méthanol	- 4,9
Ethanol	- 5,8
n-Butanol	- 6
N.N.diméthylformamide	- 6,6

$$(\text{pK}_\text{A})_\text{S} = (\text{pK}_\text{A})_{\text{H}_2\text{O}} - \text{pK}_\text{S}$$

Comparons les valeurs de $pK_A C_{II}$ ainsi calculées, et les valeurs expérimentales, mesurées par KOLTHOFF dans le méthanol et l'éthanol (4, p. 309) :

Colorant	Méthanol		Ethanol	
	Calcul.	Exp.	Calcul.	Exp.
Bleu de bromophénol	9,1	8,9	10	9,5 - 9,6
Vert de bromocrésol	9,8	9,8	10,7	10,5-10,6
Pourpre de bromocrésol	11,3	11,3	12,2	12,05
Bleu de bromothymol	12,2	12,4	13,1	13,2

L'accord est satisfaisant entre les valeurs obtenues par les deux méthodes.

Dans les solvants assez peu dissociants ou peu basiques, où la valeur de $pK_A C_{II}$ est élevée, la dissociation de la fonction acide faible C_{II} du colorant n'est appréciable qu'en milieu très dilué ; en milieu plus concentré, l'excès d'ions H_2S^+ apporté par la réaction (89) déplace vers la gauche l'équilibre (90). Dans le méthanol et l'acétone, les solutions $10^{-6}M$ de bleu de bromophénol sont bleues, les solutions $10^{-4}M$ sont jaunes.

c) Dissociation ionique de l'alcaloïde



Les constantes de dissociation dans l'eau d'un grand nombre d'alcaloïdes ont été déterminées par KOLTHOFF en 1925 (24) ; elles sont représentées sur le tableau XVI.

On peut en principe calculer la valeur de pK_B Al dans un solvant quelconque en retranchant de son pK_B dans l'eau une valeur pk'_s liée à ce solvant (4) :

Solvant	pk'_s (HB ⁺ /B)
Méthanol	- 1,5
Ethanol	- 4,1

$$(pK_B)_S = (pK_B)_{H_2O} - pk'_s \quad (94)$$

Les valeurs de pK_B Al calculées ainsi pour quelques alcaloïdes sont :

Alcaloïde	Eau	Méthanol	Ethanol
Atropine	4,35	5,85	8,45
Codéine	6,05	7,55	10,15
Papavérine	8,07	9,57	12,17

Les alcaloïdes se comportent donc comme des bases faibles peu ionisées.

La valeur de pK_A Al se déduit aisément de celle de pK_B Al sachant que :

$$pK_A = pK_i - pK_B$$

On trouve pour les alcaloïdes déjà cités :

Alcaloïde	Eau	Méthanol	Ethanol
Atropine	9,65	10,85	10,65
Codéine	7,95	9,15	8,95
Papavérine	5,93	7,13	6,93

Les ions $HA1^+$ sont donc en général des acides faibles.

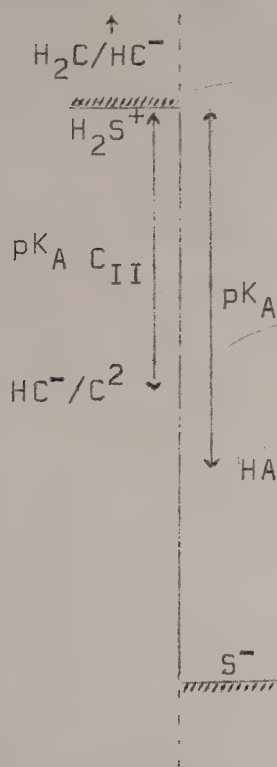
d) Dissociation ionique des sels



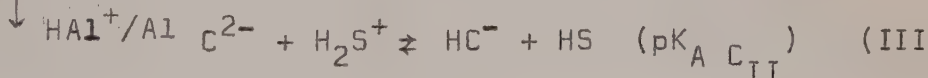
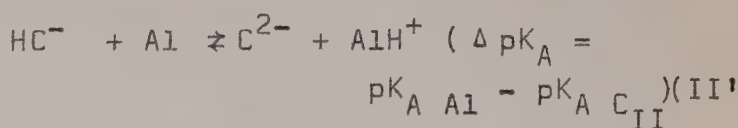
L'équilibre est d'autant plus déplacé vers la droite que :
 $pK_A = pK_{A A1} - pK_{A C_{II}}$ est plus grand.

II - Applications aux dosages

a) Dosage volumétrique



Comme dans les solvants peu dissociants, le dosage volumétrique repose sur trois réactions :



Leur quantitativité se déduit de l'échelle des pK_A , schématisée sur la figure 64 :

Figure 64

- La réaction I', dans les solvants dont la limitation par la basicité est située au-dessus de celle de l'eau, peut être considérée comme quantitative pour la plupart des alcaloïdes, avec une erreur d'autant plus faible que leur pK_A est plus grand et leur concentration plus élevée (Cf CHARLOT, (3, p. 260 et 276)).

- De la réaction II' dépend la sensibilité du dosage : cette réaction est d'autant plus quantitative et la coloration foncée d'autant plus intense à concentrations égales, que ΔpK_A est plus grand, donc que le solvant est plus dissociant, puisque HC^- est un acide de type A^-/A^{2-} , et $HA1^+$ un acide de type HB^+/B (Cf chapitre I, p. 35+36). Ainsi le ΔpK_A entre l'atropine et le BBP_{II} est voisin de 1 dans l'éthanol ($\epsilon = 24,3$), de 2 dans le méthanol ($\epsilon = 32,6$), de 5,5 dans l'eau ($\epsilon = 80$).

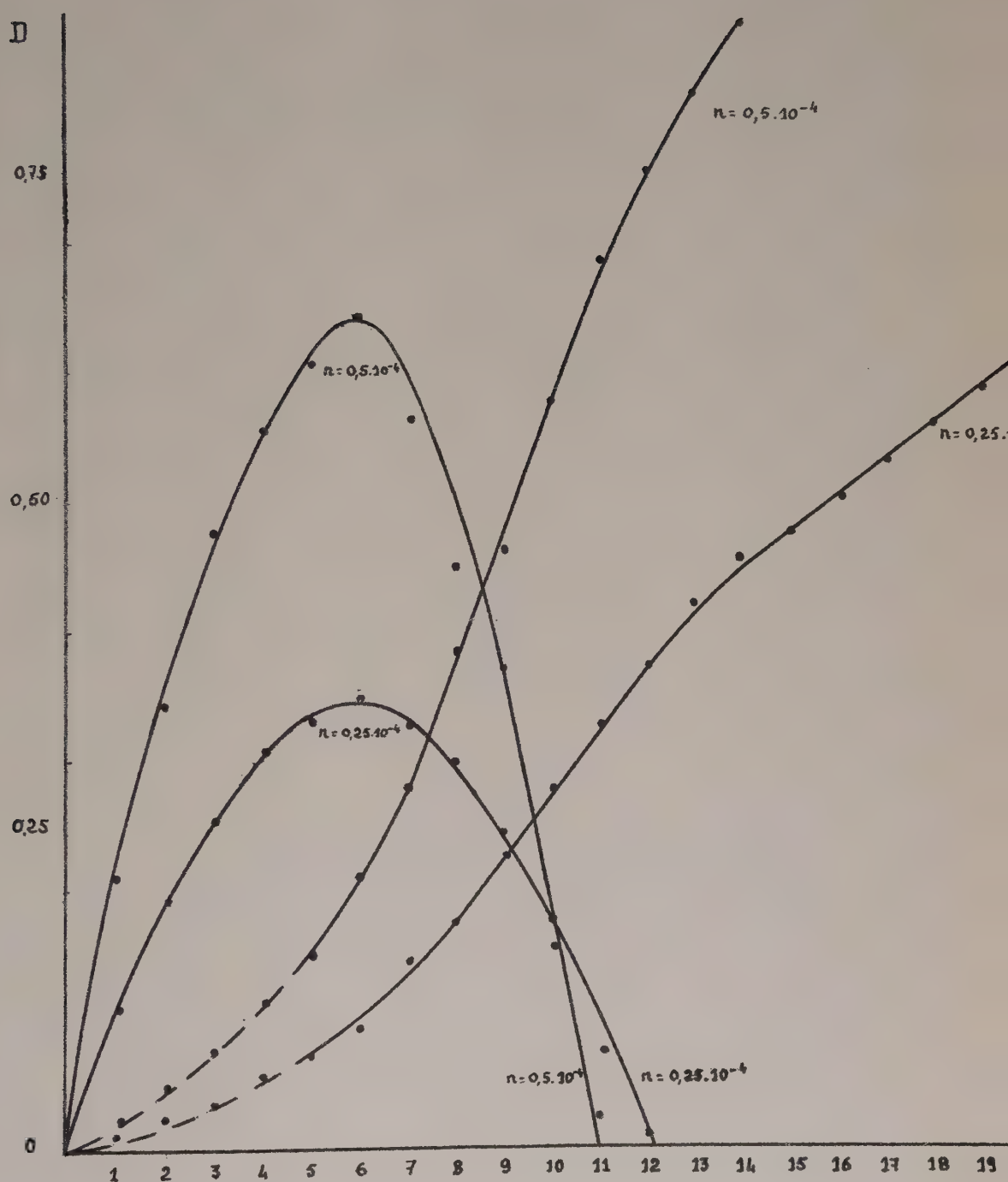
- La réaction III' conditionne la précision du dosage ; elle est d'autant plus quantitative, et par suite l'excès d'ions H_2S^+ nécessaire pour faire disparaître l'ion foncé C^{2-} est d'autant plus faible, que $pK_A C_{III}$ est plus grand. Ainsi le dosage volumétrique est plus précis dans l'éthanol que dans le méthanol ; il est impossible dans l'eau.

Les figures 65 et 66, correspondant respectivement aux tableaux LVI et LVII, représentent les courbes des variations continues dans le méthanol et l'éthanol, purifiés par distillation sur acide sulfanilique. Les valeurs de n étudiées sont $0,25 \cdot 10^{-4}$; $0,5 \cdot 10^{-4}$; $0,25 \cdot 10^{-3}$; 10^{-3} pour le méthanol ; $0,25 \cdot 10^{-4}$ et $0,5 \cdot 10^{-4}$ pour l'éthanol. Les résultats obtenus appellent quelques considérations :

- il se forme deux types de composés jaunes au cours de l'expérience : le premier, dont le maximum d'absorption se

Numéro du tube	n = 0,25.10 ⁻⁴		n = 0,5.10 ⁻⁴		n = 0,25.10 ⁻³		n = 10 ⁻³	
	Composé jaune	Composé foncé	Composé jaune	Composé foncé	Composé jaune	Composé foncé	Composé jaune	Composé foncé
	λ max	Dopt.	λ max	Dopt.	λ max	Dopt.	λ max	Dopt.
1	385 mμ	0,003	595 mμ	0,094	385 mμ	0,020	595 mμ	0,234
2		0,012		0,171		0,044		0,410
3		0,024		0,260		0,064		0,570
4		0,032		0,345		0,089		0,737
5		0,044		0,408		0,112		0,897
6		0,066		0,460		0,134		0,990
7		0,078		0,502		0,166		>1
8		0,092		0,566		0,203		>1
9		0,112		0,553		0,250		0,974
10		0,132		0,504	425 mμ	0,354		0,835
11	425 mμ	0,206		0,435		0,473		0,148
12		0,240		0,345		0,582		0,403
13		0,310		0,222		0,755		0,010
14		0,358		0,132		0,858		
15		0,452		0,015		0,940		
16		0,490				>1		
17		0,516				>1		
18		0,546				>1		
19		0,565				>1		
20		0,580				>1		

>1
0,066



ETHANOL

(Courbes des variations continues)

(en tirets: D correspondant à $\lambda_{\max} < 400 \text{ m}\mu$)

Numéro du tube	$n = 0,25 \cdot 10^{-4}$				$n = 0,5 \cdot 10^{-4}$			
	Composé jaune		Composé foncé		Composé jaune		Composé foncé	
	λ max	Dopt.	λ max	Dopt.	λ max	Dopt.	λ max	Dopt.
1	390 m μ	0,015	600 m μ	0,110	390 m μ	0,026	600 m μ	0,212
2		0,026		0,192		0,048		0,342
3		0,034		0,252		0,076		0,476
4		0,057		0,308		0,112		0,556
5		0,072		0,326	430 m μ	0,150		0,594
6		0,092		0,352		0,210		0,647
7	430 m μ	0,146		0,326		0,280		0,564
8		0,175		0,303		0,386		0,447
9		0,228		0,242		0,465		0,370
10		0,280		0,153		0,580		0,173
11		0,330		0,076		0,690		0,022
12		0,376		0,012		0,760		
13		0,422				0,812		
14		0,458				0,872		
15		0,480				0,988		
16		0,504				> 1		
17		0,534				> 1		
18		0,562				> 1		
19		0,588				> 1		
20		0,620				> 1		

dans un solvant dissociant comme l'éthanol et surtout le méthanol, où la coloration foncée est beaucoup plus intense qu'en milieu peu dissociant ; il est cependant nécessaire d'opérer à des concentrations supérieures à $10^{-3}M$, sinon les dosages sont entachés d'une erreur par excès.

D E U X I E M E P A R T I E

ETUDE DES VARIATIONS DU TAUX DE GLUCO-ALCALOIDES
DANS DIVERS SOLANUM A L'AIDE DU BLEU DE BROMOPHENOL.

I N T R O D U C T I O N

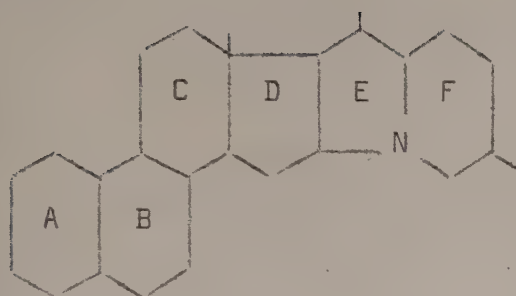
La structure stéroïdique de l'aglucone des gluco-alcaloïdes des *Solanum* a retenu, depuis une dizaine d'années, l'attention de nombreux chercheurs, en vue de l'hémisynthèse d'hormones corticoïdes ou sexuelles.

Un inventaire des *Solanum* à gluco-alcaloïdes a été dressé par SCHREIBER en 1961 (203) et complété en 1963 (383) . Les gluco-alcaloïdes de chaque espèce ont été isolés en vue d'étudier leur constitution chimique.

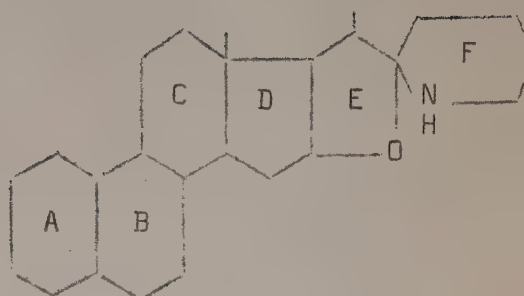
La partie glucidique est formée d'un à quatre oses (glucose, galactose, rhamnose, xylose), dont l'enchaînement n'a pas toujours pu être précisé (120, 183, 184, 195, 226, 231, 232, 235, 314, 318, 341, 441, etc...) .

La partie agluconique azotée, de nature alcaloïdique, dérive du solanidane ou du spirosolane, substances stéroïdiques plus ou moins proches du cholestérol, de certains saponénols (347, 350, 352, 371, 381, etc...) et d'hormones telles que la progestérone et la cortisone dont elle permet la synthèse (203, 245, 262, 351, 353, 359 à 400, etc...) . L'azote appartient à un cycle pipéridique (F), lié à la partie stérolique cyclopentanophénanthrénique (A, B, C, D) par un cycle intermédiaire E. Cet azote est tertiaire et commun aux deux cycles E et F dans la solanidane (311, 312, 420) ; il est secondaire dans le spirosolane (163, 223, 224, 225, 344, 345, 346) .

On rattache au solanidane la solanidine de *S. tuberosum* (Pomme de terre), la demissidine de *S. demissum* (220) , la leptinidine de *S. chacoense* (237) , etc... ; cette structure se retrouve dans certains alcaloïdes de *Veratrum* (Liliacées) : rubijervine, isorubijervine (300, 301, 343, 356) .



SOLANIDANE



SPIROSOLANE

Du ~~spinosolane~~ ~~spinosolane~~ dérivent la solasodine de *S. sodomoeum*, (111, 421, 422, 425) et de *S. nigrum* (Morelle noire) (375) , la tomatidine de *S. lycopersium* (Tomate) (224, 423) , la soladulcidine de *S. dulcamara* (Douce-amère) (374) , etc... ; cette structure n'a pas été rencontrée en dehors du genre *Solanum*.

Il nous a semblé intéressant d'étudier la répartition des gluco-alcaloïdes dans les différents organes de la plante et de suivre leurs variations qualitatives et quantitatives au cours de la végétation ; il était pour cela nécessaire de disposer de méthodes de dosage sensibles et spécifiques.

C H A P I T R E I

DOSAGE DES GLUCO-ALCALOIDES TOTAUX

Pour effectuer ce dosage dans de bonnes conditions, nous avons d'abord essayé diverses méthodes sur les gluco-alcaloïdes purs. Nous avons ensuite recherché une technique d'extraction quantitative des gluco-alcaloïdes à partir d'un échantillon végétal. Nous avons enfin appliqué la méthode de dosage ainsi mise au point à l'étude des variations du taux des gluco-alcaloïdes totaux dans les différents organes de trois espèces de *Solanum* : *S. dulcamara*, *S. nigrum*, *S. lycopersicum*, en fonction de la période de végétation.

I - Dosage des gluco-alcaloïdes purs

Après avoir comparé les différentes méthodes employées, nous étudierons si le dosage volumétrique par le bleu de bromophénol peut être appliqué aux gluco-alcaloïdes.

a) Etude des différentes méthodes

α- Méthode gravimétrique

La méthode initiale de MORGENSTERN (277) a été la seule employée pendant un demi-siècle, avec quelques variantes (53, 59, 65, 77, 80, 92, 97, 100, 101, 130, 142, 147, 153, 167, 173, 179, 180, 191, 193, 212, 250, 251, 252, 272, 276, 277, 308, 310, 331, 363, etc...) ; une étude critique des diverses techniques a été faite en 1933 par VALENTIN (426) . Les gluco-alcaloïdes sont extraits le plus quantitativement possible, purifiés et pesés à l'état de base.

La méthode gravimétrique est longue et fastidieuse ; elle est entachée d'une erreur par excès si la purification du gluco-alcaloïde est insuffisante ; **lorsque** la purification

est trop poussée, on a une erreur par défaut, une partie des gluco-alcaloïdes s'éliminant au cours des lavages et recristallisations. La gravimétrie des gluco-alcaloïdes est à l'heure actuelle abandonnée.

β - Méthode des "sucres"

Les gluco-alcaloïdes isolés sont hydrolysés et les sucres libérés sont dosés par oxydi-réductimétrie, à l'aide de la solution cupro-alkaline (136) ou par la méthode de HAGEDORN-JENSEN (203, p. 171, 317) .

Cette méthode suppose que les sucres sont quantitativement libérés, sans altération au cours de l'hydrolyse. Au cours de nos expériences, nous avons constaté que les conditions nécessaires pour obtenir une hydrolyse quantitative, ébullition pendant 3 heures dans l'acide sulfurique 2 N par exemple, détruisent une partie des sucres libérés, en particulier du rhamnose.

Pour certains gluco-alcaloïdes PROKOSHEV (317) effectue une hydrolyse partielle, qui libère le rhamnose ou le xylose situés en bout de chaîne et faciles à détacher quantitativement ; il dose ensuite colorimétriquement le rhamnose par la réaction de DISCHE ou le xylose par la réaction de BIAL. Cette méthode, qui a été discutée par SCHREIBER (366) , n'est pas générale.

γ - Méthodes colorimétriques au formaldéhyde

La première de ces méthodes, utilisant la réaction d'ALBERTI (55) a été mise au point par PFANKUCH (305) en 1937, et reprise par de nombreux auteurs pour suivre les variations du taux de solanine dans *S. tuberosum* (64, 67, 69, 140, 151, 181, 199, 200, 202, 246, 254, 318, 386, 436, 443) . Elle est basée sur la mesure colorimétrique de la coloration rouge groseille qui se développe lorsque l'on ajoute une trace de

formol au gluco-alcaloïde dissous dans l'acide sulfurique concentré.

Ce dosage a été particulièrement étudié par MATAS (271) et PROKOSHEV (314, 316) ; SCHREIBER l'a modifié pour réduire au minimum les erreurs expérimentales (203, p. 47) .

Si l'on remplace l'acide sulfurique par l'acide phosphorique, la coloration obtenue est bleu ardoisé ; cette réaction, découverte par CLARKE, (131) en 1958, est plus sensible que celle d'ALBERTI ; elle a été appliquée au dosage des gluco-alcaloïdes par SCHREIBER (203, p. 47) . Les gluco-alcaloïdes sont dissous dans un mélange à volumes égaux d'acide phosphorique à 20 % et d'éthanol à 96° ; à 1 ml de solution on ajoute 10 ml de formaldéhyde à 50 mg pour 100 ml dans l'acide phosphorique ; après 30 minutes d'attente on lit la densité optique à 600-605 mμ .

Nous avons constaté que cette méthode est fidèle et précise ; la densité optique à 601 mμ est rigoureusement proportionnelle à la concentration en gluco-alcaloïde. Mais elle n'est valable que pour les gluco-alcaloïdes présentant une double liaison en 5 - 6 : solanine, chaconine, solasonine, leptine ; la demissine, la soladulcine, la tomatine, ne donnent pas de coloration avec le formaldéhyde en milieu acide.

δ - Autres méthodes colorimétriques

CERCOS et BURACHIK ont publié en 1955 un dosage colorimétrique de la tomatine, qui donne une coloration violette en présence d'acide silicotungstique dans un mélange d'acides lactique et acétique (129) . Après quelques essais, nous avons abandonné cette méthode, peu fidèle et inutilisable pour certains gluco-alcaloïdes comme la solanine pour lesquels il apparaît non pas une coloration, mais un précipité violet.

Nous n'avons pas retenu la méthode de WIERZCHOWSKI et WIERSCHOWSKA (431) , dont le réactif, solution de trichlorure

d'antimoine dans l'acide chlorhydrique concentré, est désagréable à préparer et à manipuler.

GRACZA hydrolyse les gluco-alcaloïdes par l'acide chlorhydrique, à chaud, et dose colorimétriquement, après les avoir extraits par le chloroforme, les complexes colorés formés entre les aglucones et un colorant acide : soit un acide azobenzène sulfonique, tel que l' α -naphtylorange, (174, 175) soit un dérivé de la phénolsulfonephtaléine (175) . Cette méthode nécessite une hydrolyse quantitative des gluco-alcaloïdes, difficilement réalisable, puis une extraction, elle aussi quantitative, des aglucones sous forme de composés colorés. L'extraction ne peut se faire qu'à pH très acide (pH 1). Au cours de nos essais sur la solanine et la tomatine, les résultats ont été inférieurs de 40 à 50 % aux quantités réelles ; de plus la solanidine se déshydrate au cours de l'hydrolyse en solanthrène dont la coloration jaune-orangé gêne le dosage colorimétrique.

c - Méthodes volumétriques

Le dosage volumétrique des gluco-alcaloïdes a été effectué par GYENES dans un mélange à 20 % (p/v) de phénol et de tétrachlorure de carbone, par l'acide p.toluène sulfonique (189, 190) ou par l'acide p.nitro.toluène sulfonique (203, p. 177) , en solution N/200, en présence de jaune de méthyle. Cette méthode est simple ; elle évite l'hydrolyse et l'extraction de l'aglucone, éliminant ainsi d'importantes causes d'erreur. Cependant l'emploi d'un indicateur de type I, le jaune de méthyle, peut nuire à la spécificité du dosage.

Nous avons repris ces méthodes qui nous semblaient les meilleures en remplaçant les couples acide sulfonique/jaune de méthyle par le bleu de bromophénol.

b) Etude du dosage volumétrique par le bleu de bromophénol

Théoriquement les gluco-alcaloïdes peuvent être dosés par la méthode au bleu de bromophénol si leur basicité est assez forte et s'ils sont solubles dans des solvants permettant le dosage.

α - Basicité des gluco-alcaloïdes

Le pK_B H_2O de la solanine, déterminé par KOLTHOFF en 1925 (215), est de 6,66. En 1952, BLOOM et BRIGGS (89) indiquaient les pK_B d'un certain nombre de gluco-alcaloïdes et de leurs aglucones, dans l'éthanol à 60°, parmi lesquels nous avons retenu :

Solanidine	5,38
5 α -solasodanol	6,40
Solasonine	6,26
Solasodine	6,30

En 1958, TOLDY (408) et BAGGESGAARD-RASMUSSEN (68) publiaient d'autres valeurs de pK_B :

Tomatidine	6,95
Soladulcamarine	5,57
Soladulcamaridine	5,78

Le pK_B de la solanine, déterminé dans l'eau, doit être mis à part. Si, pour les deux exemples dont nous disposons : solasonine et soladulcamarine, on compare le pK_B de l'aglucone à celui du gluco-alcaloïde correspondant, on constate qu'ils sont très proches l'un de l'autre ; il semble donc que la chaîne glucidique modifie peu la basicité. On peut alors supposer que les pK_B des gluco-alcaloïdes contenant la solanidine et la tomatidine sont voisins de ceux de leurs aglucones. Si l'on essaie de classer les gluco-alcaloïdes par

ordre de basicités décroissantes, on doit avoir:

- groupe de la solanidine
- groupe de la soladulcamaridine
- groupe de la solasodine
- groupe de la tomatidine

Les gluco-alcaloïdes étant insolubles dans le chloroforme, nous n'avons pu les placer sur l'échelle unique établie pour les autres alcaloïdes dans ce solvant ; par contre en appliquant la relation (34), nous avons mesuré leur pK approximatif par rapport à la fonction acide faible du bleu de bromophénol dans le solvant de GYENES. Ce pK, légèrement inférieur à 3 pour la tomatine, est voisin de 3,6 pour la solanine ; il est également supérieur à 3 pour les gluco-alcaloïdes de *S. dulcamara*.

La basicité des gluco-alcaloïdes est donc suffisante pour pouvoir envisager leur dosage volumétrique par le bleu de bromophénol.

β - Choix du solvant

Les meilleurs solvants des gluco-alcaloïdes sont la pyridine et le solvant de GYENES, solvants peu dissociants et les alcools légers, méthanol et éthanol, qui sont des solvants dissociants.

La pyridine, solvant basique donnant le composé foncé avec le bleu de bromophénol, ne peut être employée pour le dosage.

Dans le solvant de GYENES le dosage volumétrique des alcaloïdes est possible (Cf chapitre IV, p. 131), mais aux faibles concentrations sa sensibilité peut être abaissée par la légère acidité du phénol. Nous avons constaté expérimentalement qu'il est applicable aux gluco-alcaloïdes purs ou en

mélange. On obtient une précision de 99 % à des concentrations variant entre 10^{-4} et $0,5.10^{-2}M$ pour la solanine et les gluco-alcaloïdes de *S. dulcamara* ; pour la tomatine la sensibilité est moindre, la limite inférieure de concentration est de $0,5.10^{-3}M$ environ. Notons qu'aux concentrations supérieures à $0,5.10^{-2}M$ le composé foncé précipite dès sa formation et que le dosage n'est alors possible qu'après dilution. Nous utiliserons le solvant de GYENES pour doser les gluco-alcaloïdes totaux obtenus à partir d'échantillons végétaux.

Le méthanol et l'éthanol sont plus aisés à manipuler que le solvant de GYENES ; mais le dosage volumétrique au B.B.P. y subit une légère erreur par excès, due à la faible basicité du solvant ; on peut négliger cette erreur lorsque la concentration est de l'ordre de $10^{-3}M$ (Cf chapitre VII, p. 172). Le dosage en milieu alcoolique gagne en sensibilité, puisque il se forme plus de composé foncé, mais il perd en spécificité, les alcools dissolvant certaines impuretés, sels en particulier, qui s'y comportent comme des bases vis-à-vis de la fonction acide faible du colorant. Nous avons eu recours au méthanol pour déterminer la solubilité des gluco-alcaloïdes.

II - Etude de l'extraction quantitative des gluco-alcaloïdes à partir d'un échantillon végétal

Les gluco-alcaloïdes des *Solanum* ne peuvent être extraits par les méthodes employées habituellement pour les alcaloïdes :

- ils ne sont pas solubles dans la plupart des solvants organiques non miscibles à l'eau (chloroforme, benzène, éther, etc...) ;

- leur solubilité dans l'eau n'est pas négligeable ;

- leurs solutions dans les alcools, surtout de poids moléculaire élevé, forment souvent des gels ;

- ils sont hydrolysés à chaud par les acides ;
- ils peuvent également être hydrolysés par les enzymes contenus dans certains organes de la plante, d'où la nécessité d'une stabilisation aussitôt après la récolte ;
- chaque espèce contient plusieurs gluco-alcaloïdes dont la séparation est parfois délicate.

Nous avons comparé les diverses méthodes employées, puis, pour fixer les meilleures conditions d'extraction, nous en avons suivi les différentes étapes en testant leur quantitativité par la méthode volumétrique au bleu de bromophénol.

A - Etude bibliographique

Depuis DESFOSSÉS qui, en 1820, retira pour la première fois la "solanine" des baies de Morelle en alcalinisant le suc de fruits mûrs par une base forte et en reprenant le résidu par l'alcool bouillant (143, 144) , de nombreux auteurs se sont intéressés à l'extraction des gluco-alcaloïdes de *Solanum* ; nous comparerons leurs techniques d'extraction proprement dite, puis de purification des gluco-alcaloïdes ; enfin nous rapporterons deux exemples de méthodes.

1 - Extraction proprement dite

Dans les diverses méthodes proposées, cette extraction est réalisée en milieu neutre, en milieu alcalin ou en milieu acide, à partir d'organes frais (97, 110, 220, etc...) ou séchés à l'étuve (168, 194, 220, 374, etc...) .

Extraction en milieu neutre

L'eau a été utilisée, en général à l'ébullition (208, 238, 272) ; les alcaloïdes sont précipités par alcalinisation.

On a recours de préférence aux alcools, meilleurs dissolvants des gluco-alcaloïdes ; on utilise soit l'éthanol, par

décoction (64, 167, 218, 272, 299) ou par percolation (182, 333) , soit le méthanol, par décoction (97, 121, 325) ou au soxhlet (69) .

Les liquides extractifs alcooliques sont distillés pour obtenir les gluco-alcaloïdes bruts.

Extraction en milieu alcalin

Nous citerons seulement l'extraction de la solanine des germes de pomme de terre par l'alcool bouillant en présence de chaux (128) .

Extraction en milieu acide

De nombreux auteurs ont employé l'eau acidifiée par divers acides :

- l'acide sulfurique (75, 80, 90, 102, 133, 210, 270, 281, 282, 320, 387, 414, 429, 435) , de concentration variable, généralement à froid.

- l'acide acétique (66, 124, 136, 156, 168, 181, 220, 240, 255, 308, 309, 341, 383) ,

- l'acide métaphosphorique (316) , l'acide nitrique (417) ,

- l'acide chlorhydrique (102) , l'acide citrique (250) , ou l'acide tartrique (194) .

L'éthanol, acidifié par l'acide acétique (151, 329) ou l'acide tartrique (276) a aussi été proposé.

2 - Purification

Les gluco-alcaloïdes bruts, obtenus par précipitation ou par évaporation d'une solution extractive, sont purifiés :

- soit par lavage à l'eau chaude (99) , à l'eau ammoniacale (329, 383, 431, etc...) ou par un solvant des graisses : éther de pétrole ou éther éthylique (128, 195) , mélange

benzène-éther (383) , qui dissolvent peu les gluco-alcaloïdes ;

- soit par dissolution dans le méthanol (124, 240, 387, 417) , l'éthanol (80, 102, 168, 182, 220, 435, etc...) ou l'amylol (329) ; on opère souvent en présence d'un adsorbant qui retient les impuretés : magnésie (299) , kieselgühr (99) , noir animal (182, 309, 347, 414) ou alumine (184) ;

- soit par dissolution dans un acide dilué et précipitation par une base (66, 78, 151, 167, 181, 182, 194, 218, 272, 325, 347) ;

- soit par des méthodes particulières : dissolution dans le méthanol et précipitation par l'acétone (361) , dissolution dans la pyridine ou la diméthylformamide et précipitation par l'éther (383) , formation de chromates insolubles (182)

La cristallisation des gluco-alcaloïdes purifiés, difficile à cause de leur propriété de former des gels avec les solvants hydrophiles, peut être obtenue dans le méthanol (220, 361, 414) ou dans l'éthanol (66, 128, 156, 195, 272, etc...) ; les alcools de poids moléculaire plus élevé, dans lesquels les gels se forment très facilement, ne peuvent être employés. On peut encore utiliser pour cette cristallisation un mélange d'eau et de dioxanne (78, 110, 341) , d'ammoniaque et de dioxanne (162) ou d'eau et de pyridine (69) .

3 - Exemples de méthodes

SCHREIBER (383) a proposé récemment les deux méthodes suivantes applicables au dosage des gluco-alcaloïdes dans divers Solanum :

Méthode A

La plante, nettoyée et séchée est mise à macérer pendant 48 heures dans 15 à 20 fois son poids d'acide acétique à 5 %, puis pendant 24 heures avec la moitié du même acide, à tempé-

rature ordinaire. Les liqueurs d'extraction réunies sont filtrées sur poudre de diatomées, puis alcalinisées à 70° par l'ammoniaque (à pH 10) pour précipiter les gluco-alcaloïdes. Le précipité, séparé par filtration, est lavé avec de l'ammoniaque à 1 %, puis séché. La poudre obtenue est épuisée par le méthanol ; la solution alcoolique est filtrée puis évaporée à sec. Les gluco-alcaloïdes sont dissous dans la pyridine ou la diméthylformamide puis précipités par addition de 10 à 15 volumes d'éther ; après séchage on les dose colorimétriquement.

Méthode B

La drogue séchée est épuisée pendant 30 minutes par le méthanol à 90 % ou l'éthanol à 80° bouillants (1 500 ml pour 100 g de plante sèche). Le résidu est traité une seconde fois, pendant 15 minutes par une quantité moitié moindre d'alcool. Les liqueurs alcooliques réunies sont concentrées sous vide au 1/20 de leur volume. Après acidification par un volume égal d'acide acétique à 10 %, la solution est agitée avec un mélange benzène-éther (1/1) pour éliminer les graisses. Les gluco-alcaloïdes sont précipités à 70° par l'ammoniaque et dosés comme précédemment.

B - Etude expérimentale de l'extraction

L'extraction des gluco-alcaloïdes en vue de leur identification et de leur dosage doit être effectuée de manière à éviter leur altération, en particulier par hydrolyse ; elle doit être complète, sélective, et aussi rapide que possible, conditions qui peuvent être assurées par un choix judicieux du solvant d'extraction et de la méthode de purification.

1 - Possibilités d'hydrolyse

Les gluco-alcaloïdes peuvent être altérés par hydrolyse acide ou enzymatique, libérant un ou plusieurs oses.

α - Hydrolyse acide

Elle a été mise en évidence en 1859 par ZWENGER (443) ; même en milieu très acide, la chaîne glucidique n'est pas hydrolysée à froid ; elle l'est par contre dès que la température s'élève, même en solution faiblement acide.

Au cours de nos travaux nous avons pu faire deux observations significatives :

- après ébullition pendant 10 minutes dans une solution 0,05 N d'acide chlorhydrique dans le méthanol, le rhamnose se détache en partie de la chaîne glucidique de la chaconine : d'une part le chromatogramme des gluco-alcaloïdes présente deux taches ; la chaconine est un produit d'hydrolyse partielle ; d'autre part la chromatographie des sucres montre une tache de rhamnose ; notons que dans les mêmes conditions la solanine est pratiquement inaltérée.

- une solution de gluco-alcaloïde de *S. dulcamara* dans le méthanol acétique à 5 %, exposée au soleil pendant l'été (température maxima : 35° environ), montre à la chromatographie un produit d'hydrolyse partielle, tandis qu'une solution identique, conservée au réfrigérateur, reste inaltérée.

Afin d'éviter tout risque d'hydrolyse acide, nous avons proscrit l'emploi des acides à chaud au cours de l'extraction, et nous avons conservé les gluco-alcaloïdes en solution dans le méthanol neutre, en lieu frais.

β - Hydrolyse enzymatique

Les hydrolases de *S. tuberosum*, de *S. lycopersicum* et de *S. aviculare* ont été étudiées entre 1956 et 1960 par PROKOSHEV

(318) et GUSEVA (183, 184) . Nous avons constaté la présence d'enzymes identiques dans *S. nigrum* et dans *S. dulcamara* : des broyats de feuilles fraîches, conservés pendant 3 jours à la température du laboratoire, contiennent des produits d'hydrolyse partielle des gluco-alcaloïdes, mis en évidence par chromatographie sur papier.

Pour éviter l'hydrolyse enzymatique il faut stabiliser les échantillons végétaux immédiatement après la récolte.

2 - Choix du solvant d'extraction

La solubilité des gluco-alcaloïdes dans l'eau n'est pas négligeable ; elle a été étudiée par plusieurs auteurs dont WOLF et DUGGAR (436) qui ont établi la courbe de solubilité de la solanine en fonction du pH.

La solubilité dans les solvants organiques n'a pas été étudiée à notre connaissance de manière systématique. Pour cette étude, la méthode de dosage au bleu de bromophénol présente des avantages de simplicité, de précision, ainsi que de sensibilité, permettant d'effectuer des essais sur de petites quantités de gluco-alcaloïdes.

Les expériences ont été effectuées sur de la solanine (C.P.F.) et de la tomatine (N.B.C) pures, dans des solvants R.P. Les produits ont été dosés par une solution $10^{-3}M$ de bleu de bromophénol dans du méthanol distillé sur acide sulfanilique.

A 2 ml de solvant à étudier, porté à 50° dans un bain-marie, nous avons ajouté le gluco-alcaloïde, par petites quantités et en agitant, jusqu'à ce qu'il en reste un résidu non dissous. Nous avons laissé 2 h au bain-marie en agitant constamment, puis nous avons laissé refroidir ; après avoir filtré les solutions, nous avons évaporé 0,5 ml du filtrat, repris le résidu par quelques gouttes de méthanol rectifié,

et dosé par la solution titrée de bleu de bromophénol.

Lorsque l'expérience était faite avec les alcools en C_4 et C_5 , nous avons dû effectuer filtration et dosage immédiatement après le refroidissement de la solution pour éviter sa prise en gel. Par contre, nous avons laissé reposer une nuit les solutions de gluco-alcaloïdes dans le méthanol et l'éthanol à 80° pour permettre la cristallisation complète de l'excès de produit : la tomatine cristallise en longues aiguilles et la solanine en rosettes.

Les résultats en g/100 ml sont représentés sur le tableau LVIII ; ces résultats n'ont qu'une valeur relative, en particulier pour les alcools en C_4 et C_5 , étant donné les conditions de saturation ; ils permettent cependant quelques considérations très utiles pour guider le choix du solvant d'extraction :

T A B L E A U LVIII

Solvant	Solubilités en g/100 ml	
	Solanine	Tomatine
Chloroforme	0	0
Acétate d'éthyle	0	0
Acétone	0	légèrement soluble
Pyridine	très soluble	très soluble
Méthanol absolu	0,08	0,62
Ethanol absolu	0,06	0,12
Ethanol à 80°	0,25	0,84
Isopropanol anhydre	0,05	0,1
Isobutanol saturé d'eau	-	0,25
Isoamylol anhydre	0,02	0,05
Isoamylol saturé d'eau	-	0,08

- la tomatine est nettement plus soluble que la solanine dans tous les solvants, et surtout dans le méthanol absolu ;

- la solubilité des gluco-alcaloïdes est beaucoup plus grande dans les alcools hydratés que dans les alcools anhydres, et ceci d'autant plus que le poids moléculaire de l'alcool est plus faible.

- l'éthanol à 80° apparaît comme un bon solvant pour l'extraction directe des gluco-alcaloïdes à partir d'un organe végétal.

Nous avons observé en outre que la solubilité des gluco-alcaloïdes dans les alcools est beaucoup plus élevée à chaud qu'à froid.

La solubilité dans les alcools en C₄ ou C₅ est relativement faible, mais ces alcools sont les seuls solvants non miscibles à l'eau dans lesquels les gluco-alcaloïdes soient un peu solubles ; ils peuvent être utiles pour extraire des traces de gluco-alcaloïdes d'une solution aqueuse alcaline où ils sont légèrement solubles.

3 - Choix de la méthode de purification

La purification des gluco-alcaloïdes s'effectue par dissolution de l'extrait brut dans un acide dilué et précipitation par une base telle que l'ammoniaque ; cette dernière opération se heurte à diverses difficultés :

- à la solubilité des gluco-alcaloïdes dans l'eau alcaline : cette solubilité serait de 2,5 mg % selon BOMER et MATTIS (100) , qui appliquaient à leurs dosages un facteur correctif ; ce facteur a été modifié par ROOKE (329) (0,2 mg %), par WOLF et DUGGAR (436) (0,1 mg % dans l'eau à pH 9,5), et par d'autres auteurs (136, 252, 305, etc...) .

- à la présence de saponines dans le liquide d'extraction : les déterminations précédentes ont été faites sur des solutions d'

gluco-alcaloïdes purs dans l'eau ammoniacale. Au cours de la préparation d'un extrait végétal, la présence dans la solution de certains principes, tels les saponines, peut modifier la solubilité des gluco-alcaloïdes. L'erreur peut être importante : SCHREIBER (374) , travaillant sur *S. dulcamara*, obtient un rendement de 0,03 g de gluco-alcaloïdes pour 100 g de plante sèche lorsqu'il opère par alcalinisation et filtration, tandis que le rendement est de 0,35 g % quand il extrait le gluco-alcaloïde de la solution alcaline par agitation avec un mélange chloroforme-éthanol (2/1).

Nous avons étudié les conditions de précipitation, soit en éliminant les saponines, soit en effectuant sur le filtrat alcalin une extraction liquide/liquide des gluco-alcaloïdes restés en solution.

α - Elimination des saponines

Dès 1912, MASSON (270) signalait la présence dans *S. dulcamara* de saponines acides, de couleur verte, qu'il nommait acides dulcamarique et dulcamarétique ; les saponines de *Solanum* ont été étudiées récemment par divers auteurs (97, 338, 339, 340, 347, 371, etc...), qui ont identifié certaines sapogénines : tigogénine, néotigogénine, diosgénine, yamogénine. La présence de ces saponines peut augmenter la solubilité des gluco-alcaloïdes dans l'eau alcaline.

Nous avons recherché si en précipitant ces saponines à l'état de sels de plomb ou de baryum, insolubles dans l'eau, il était possible de rompre leur liaison éventuelle avec les gluco-alcaloïdes et d'extraire ceux-ci quantitativement ; l'acétate basique de plomb, en milieu alcalin, nous est apparu comme le meilleur réactif de précipitation des saponines. Nous avons adopté la technique suivante :

100 ml d'extrait de douce-amère dans l'acide acétique à 5 % ont été alcalinisés par l'ammoniaque, puis déféqués par 25 ml d'acétate basique de plomb (solution commerciale) ; la quantité de réactif précipitant à employer avait été déterminée par la méthode de DEBREUILLE (d'après BALANSARD et DELPHAUT (70)). Le précipité contenant gluco-alcaloïdes et sels de plomb des saponines, a été séché à l'étuve à 60°, puis épuisé au soxhlet par l'alcool à 90° pour en extraire les gluco-alcaloïdes : la solution alcoolique verte a été filtrée et évaporée ; les gluco-alcaloïdes ont été dosés volumétriquement dans l'extrait par le bleu de bromophénol. Le résultat n'est pas plus élevé que celui obtenu avec un extrait témoin non déféqué, traité par simple alcalinisation à 70° et filtration. De plus, les traces de plomb, extrêmement gênantes au cours de l'expérience, sont difficiles à éliminer. Nous avons renoncé à cette méthode, l'extraction liquide/liquide donnant des résultats nettement meilleurs.

β - Extraction liquide/liquide en phase aqueuse alcaline par un solvant non miscible à l'eau

Parmi les solvants classiques d'extraction des alcaloïdes, non miscibles à l'eau, l'éther et le chloroforme, qui ne dissolvent pas les gluco-alcaloïdes, ne sont pas utilisables isolément. SCHREIBER (374) a proposé un mélange de chloroforme et d'éthanol (2/1).

La solubilité des gluco-alcaloïdes dans les alcools en C₄ et C₅, faible, permet cependant d'en extraire de petites quantités d'une solution aqueuse ; l'isoamylol, le moins soluble dans l'eau, est celui qui donne les meilleurs résultats. Nous avons pensé qu'en ajoutant du méthanol à l'isoamylol on pourrait obtenir une meilleure extraction.

Nous avons aussi essayé la pyridine, bon solvant des gluco-alcaloïdes ; elle est miscible à l'eau, mais on peut

la relarguer par le sulfate de sodium ; les résultats sont peu satisfaisants, une grande partie de la pyridine demeurant en solution dans l'eau, où elle retient une fraction importante des gluco-alcaloïdes. Nous avons donc écarté ce solvant.

Trois systèmes de solvants pouvaient être retenus :

- le solvant de SCHREIBER : chloroforme/éthanol (2/1) ;
- l'isoamylol pur ;
- le mélange isoamylol/méthanol (10/1).

Pour comparer leur valeur, nous les avons employés pour l'extraction des gluco-alcaloïdes restés en solution dans le filtrat ammoniacal obtenu à partir d'un extrait de *S. dulcamara*, après précipitation des gluco-alcaloïdes, suivant la technique suivante :

150 g de Douce-amère fraîche (feuilles et tiges), correspondant à 45 g de plante sèche, ont été épuisés plusieurs fois par de l'alcool bouillant ; le résidu d'évaporation des solutions réunies a été repris par de l'acide acétique à 5 % ; après alcalinisation par de l'ammoniaque en excès et séjour d'une demi-heure au bain-marie à 70°, il s'est déposé un précipité de gluco-alcaloïdes que nous avons séparé par filtration puis dosé volumétriquement par le bleu de bromophénol dans le solvant de GYENES. En prenant 902 comme poids moléculaire moyen des gluco-alcaloïdes, considérés comme triosides, nous avons trouvé un taux de 0,650 g pour 100 g de plante sèche.

Le filtrat ammoniacal (vol. : 120 ml ; pH : 11 environ) a été divisé en trois parties égales, dont chacune a été agitée trois fois avec 20 ml de chacun des solvants à étudier. Les quantités de gluco-alcaloïdes extraites par chacun des solvants, dosées, après évaporation, par le bleu de bromophé-

nol, et rapportées à 100 g de plante sèche, sont :

Solvant de SCHREIBER..... 0,036 g

Isoamylol pur..... 0,25 g

Isoamylol/méthanol..... 0,15 g

Le faible résultat obtenu avec le solvant de SCHREIBER peut s'expliquer par l'insolubilité des gluco-alcaloïdes dans le chloroforme, mais aussi par le fait qu'une grande partie de l'éthanol passe dans la phase aqueuse, dont il augmente le pouvoir dissolvant vis-à-vis des gluco-alcaloïdes. L'auteur a d'ailleurs abandonné cette méthode dans l'étude qu'il a effectuée, en 1963, sur le taux en gluco-alcaloïdes de différentes solanées (383) .

Le mélange isoamylol/méthanol, supérieur au précédent, ne donne pas satisfaction, pour des raisons probablement analogues : la présence de méthanol dans l'isoamylol modifie le coefficient de partage des gluco-alcaloïdes entre ce solvant et la phase aqueuse au profit de cette dernière.

La meilleure extraction est assurée par l'isoamylol pur. Nous avons vérifié que ce solvant extrait la totalité des gluco-alcaloïdes restés dans la solution ammoniacale, en évaporant celle-ci et en effectuant sur le résidu la réaction de CLARKE ; il n'est pas apparu de coloration violette.

La quantité de gluco-alcaloïde restée en solution dans l'eau ammoniacale représente donc dans le cas étudié plus du tiers de la quantité précipitée.

En conclusion, la précipitation par l'ammoniaque des gluco-alcaloïdes, dissous dans un acide dilué, en vue de leur purification, n'est pas quantitative ; l'élimination des saponines n'est pas nécessaire, mais il importe, pour conserver



la totalité des gluco-alcaloïdes, d'épuiser le filtrat ammoniacal par de l'isoamylol, opération complémentaire indispensable que nous avons adoptée pour notre méthode de dosage des gluco-alcaloïdes dans les organes végétaux.

III - Méthode d'extraction adoptée pour notre étude

De l'étude expérimentale de l'extraction nous pouvons retenir les considérations suivantes :

- il est nécessaire d'effectuer une stabilisation de la plante le jour-même de la récolte, pour éviter l'hydrolyse enzymatique ;

- l'éthanol à 80° à chaud est un excellent solvant d'extraction des gluco-alcaloïdes contenus dans les organes végétaux ;

- les gluco-alcaloïdes sont très solubles dans une solution aqueuse à 5 % d'acide acétique (pH $\approx$ 3) ;

- les gluco-alcaloïdes ne sont pas précipités quantitativement quand on alcalinise cette solution par l'ammoniaque, mais une extraction complémentaire du filtrat ammoniacal par l'isoamylol permet de les récupérer en totalité.

Nous avons ainsi été conduits à adopter le mode opératoire suivant pour l'extraction des gluco-alcaloïdes totaux des végétaux étudiés :

Stabilisation et extraction

Un échantillon végétal frais de 50 g récolté le jour même est jeté dans 100 ml d'alcool à 96° bouillant, contenant 1 g environ de carbonate de calcium pour neutraliser éventuellement les acides végétaux et éviter toute hydrolyse acide ; on maintient l'ébullition pendant une heure dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux. Compte tenu de l'eau apportée

par l'échantillon végétal, le titre final de l'alcool est compris entre 75 et 85° ; on se trouve donc dans les conditions optima de dissolution des gluco-alcaloïdes, tandis que les matières pectiques sont insolubilisées.

On filtre sur gaze la liqueur alcoolique de stabilisation encore chaude, et on effectue une seconde extraction par 100 ml d'alcool à 80°, à l'ébullition, pendant 1 heure. Ce second extrait alcoolique est ajouté au premier après filtration sur gaze. La plante est ensuite séchée à l'étuve à 60°, puis pulvérisée, soit au mortier s'il s'agit de ~~feuilles~~, soit au broyeur s'il s'agit de tiges. La poudre obtenue est épuisée dans un extracteur de Kumagawa par 100 ml d'alcool à 80° (5 à 10 passages). Les extraits alcooliques réunis sont évaporés sous vide à 40° à l'aide d'un Rotavapor BUCHI, jusqu'à consistance d'extrait mou.

Purification

L'extrait, additionné d'un peu de sable, est trituré à trois reprises avec 10 ml d'acide acétique à 5 %. Les solutions acides décantées sont centrifugées puis filtrées sur verre fritté recouvert d'aide-filtrant CLARCEL. Le résidu de centrifugation et le filtre sont rincés à plusieurs reprises avec 2 à 4 ml d'acide acétique à 5 %.

Les solutions acétiques, réunies dans une ampoule à centrifuger de 100 ml, sont alcalinisées par l'ammoniaque ; le plus souvent le liquide devient trouble et sa couleur passe du brun au vert. L'ampoule est plongée pendant 45 minutes dans un bain-marie à 70°. Il se dépose un précipité blanchâtre de gluco-alcaloïde ; nous centrifugeons puis filtrons sur **Clarcel** la solution ammoniacale surnageante. Le précipité est lavé à deux reprises par 2 à 5 ml d'ammoniaque à 5 % et entraîné sur le filtre. Il est alors repris par du méthanol bouillant.

Le filtrat ammoniacal et les eaux de lavage sont transvasés dans une ampoule à centrifuger de 100 ml ; après agitation de 5 minutes avec 20 ml d'isoamylol, le liquide est centrifugé à grande vitesse pour rompre l'émulsion. La couche supérieure isoamylique décantée à l'aide d'un compte-goutte capillaire est ajoutée à la solution méthanolique des gluco-alcaloïdes ; cette opération est renouvelée deux fois. On vérifie l'absence de gluco-alcaloïdes dans la solution ammoniacale en effectuant une quatrième extraction par l'isoamylol, suivie d'une évaporation ; le résidu est repris par quelques gouttes de méthanol, déposé sur un fragment de papier filtre et traité par le bleu de bromophénol suivant la technique que nous décrivons pour la révélation des chromatogrammes (chapitre II, p. 211) ; s'il ne demeure pas de tache bleue sur la papier après lavage dans la solution M/2 de phosphate monopotassique, on peut considérer que l'extraction a été quantitative.

Les solutions alcooliques sont évaporées à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif ; le résidu est repris par 100 ml de méthanol ; la solution méthanolique est divisée en deux fractions égales :

- une fraction A, destinée au dosage des gluco-alcaloïdes totaux ;

- une fraction B, conservée pour le dosage des gluco-alcaloïdes isolés.

IV - Applications à l'étude des variations du taux des glucos- alcaloïdes dans divers Solanum

Nous avons étudié dans trois espèces de Solanum : *S. nigrum*; *S. lycopersicum*, var. *esculente*; *S. dulcamara*, les variations du taux d'alcaloïdes totaux dans différents organes : feuilles, tiges, fruits, en fonction de la période de végétation.

a) Récolte des échantillons

- Morelle noire (*Solanum nigrum* L.)

Tous les échantillons proviennent d'un même gisement, situé sur un terrain de remblais, sec et exposé au soleil (Colonie Francisco, Nantes) ; la végétation avoisinante est constituée surtout par des Rumex. Les prélèvements ont été effectués entre 11 h et 12 h, toujours par temps ensoleillé et en période de sécheresse.

<u>Désignation de l'échantillon</u>	<u>Période de végétation</u>	<u>Date de la récolte</u>
A	avant floraison	17 juil. 64
B	floraison, petits fruits verts	6 août 64
C	fruits verts	28 juil. 64
D	fruits verts + fruits mûrs	15 sept. 64
E	fin de saison, quelques fruits mûrs	5 oct. 64

- Tomate (*Solanum lycopersicum*, var. *esculente* Mill.)

Les prélèvements ont été effectués dans les mêmes conditions que ceux de *S. nigrum*, sur le même terrain. Le gisement

est morphologiquement homogène. Les échantillons de feuilles ont été privés de leurs pétioles.

<u>Désignation de l'échantillon</u>	<u>Période de végétation</u>	<u>Date de la récolte</u>
A	avant floraison	23 juil. 64
B	floraison	23 juil. 64
C	fruits verts	17 août 64
D	fruits verts + fruits mûrs	15 sept. 64
E	fin de saison, quelques fruits mûrs altérés	5 oct. 64

- Douce-amère (*Solanum dulcamara*, L.)

Il ne nous a pas été possible, dans le cas de la Douce-amère, d'effectuer tous les prélèvements sur un même gisement. Nous nous sommes efforcés de recueillir les échantillons moyens sur des gisement présentant les mêmes caractères : plantes buissonnantes, sarmenteuses ; les prélèvements ont été effectués sur des rameaux portés par des tiges de l'année précédente ; les feuilles et les tiges sont glabres ; dans la plupart des cas, la plante était parasitée par le Doryphore. Les lieux de récolte sont des terrains de décombres, marécageux, ombragés, recouverts d'eau en hiver et secs en été ; la végétation avoisinante était constituée d'orties, de ronces et de joncs.

L'échantillon A' diffère des autres par son aspect de plante rabougrie, ligneuse, colorée en violet par des anthocyanes, et par son lieu de végétation : amas de graviers exposé au soleil, au milieu d'un marécage.

<u>Désignation de l'échantillon</u>	<u>Période de végétation</u>	<u>Date du prélèvement</u>	<u>Lieu du prélèvement</u>
A	avant floraison	2 juil. 64	Vertou
A'	avant floraison	1 juil. 64	Colonie Francisco
B	floraison	21 juil. 64	Vertou
C	fleurs + fruits verts	8 juil. 64	St-Sébastien
D	fruits verts	1 juil. 64	Colonie Francisco
E	fruits mûrs	17 août 64	Doulon
F	fin de saison	5 oct. 64	Colonie Francisco

La plupart des échantillons utilisés correspondent à 50 g de plante fraîche, sauf dans le cas des organes pauvres en gluco-alcaloïdes, pour lesquels le poids traité est supérieur. Tous les échantillons ont été stabilisés le jour même de la récolte.

Le poids sec a été déterminé par dessiccation pendant 5 jours, à l'étuve, à 60°, d'échantillons analogues à ceux destinés à l'analyse.

b) Technique du dosage

Les liquides alcooliques extractifs, préparés comme nous l'avons décrit précédemment, contiennent des traces de sels ammoniacaux, en particulier d'acétate d'ammonium, solubles dans le solvant de GYENES et apportant au dosage par le bleu de bromophénol une erreur très importante : une purification complémentaire a donc été nécessaire ; pour cela nous avons évaporé à sec 10 ml de chacune des solutions alcooliques ; le résidu a été lavé 2 fois avec 1 ml d'ammoniaque à 5 % pour éliminer les sels solubles sans dissoudre les gluco-alcaloïdes ; la solution ammoniacale a été filtrée sur filtre d'Alhin de po-

rosité 4 ; le résidu a été repris par du méthanol bouillant ; après avoir ajusté à 10 ml la solution méthanolique, nous l'avons répartie à volumes égaux dans deux capsules ; nous avons évaporé à sec et laissé une nuit au dessiccateur sulfurique. Après avoir dissous le résidu de chaque capsule, dans 0,5 à 1 ml de solvant de GYENES * nous avons effectué le dosage, d'une part avec une solution 10^{-3} M de bleu de bromophénol, d'autre part avec une solution 10^{-3} M d'acide p-toluène-sulfonique, en présence de jaune de méthyle (concentration 10^{-4} M). Toutes les solutions titrées ont été préparées dans le solvant de GYENES.

Au cours de cette purification complémentaire, réalisée avec une faible quantité d'ammoniaque à 5 %, les pertes en gluco-alcaloïdes sont négligeables, comme nous l'avons vérifié sur des échantillons témoins de solanine et de tomatine commerciales traitées de la même manière.

Les résultats obtenus par les deux méthodes de dosage ont été identiques pour chacun des extraits. Il est nécessaire de faire le dosage sur des solutions diluées de gluco-alcaloïdes, pour éviter la précipitation du composé foncé.

La méthode au bleu de bromophénol nous a cependant paru plus avantageuse que celle de GYENES pour diverses raisons :

- la préparation du réactif titrant est simple, par pesée directe du produit commercial ;

- le virage est plus net, surtout en solution colorée par des impuretés ; tel est le cas en particulier pour les gluco-alcaloïdes extraits de la Douce-amère, dont les solutions sont toujours plus ou moins colorées en vert.

* Dans le cas de certains extraits riches en gluco-alcaloïdes provenant de Douce-amère et de fruits verts de Morelle, nous avons repris le résidu par 10 ml de solvant de GYENES, pour éviter l'apparition d'un précipité au cours du dosage par le bleu de bromophénol.

MORELLE NOIRE (*Solanum nigrum*)

Echantillon	Poids de plante traitée en g	Poids sec correspondant, en g	Volume de réactif titrant n ml	Gluco-alcaloïdes en g pour 1000 g de plante verte	Gluco-alcaloïdes en g pour 1000 g de plante sèche
A (feuilles)	50	10	0,3	0,106 **	0,53 **
A (tiges)	50	9	0,3	0,106	0,59
B (feuilles)	50	12,5	0,5	0,176	0,7
B (tiges)	50	12	0,5	0,176	0,73
C (feuilles)	50	9,5	0,45	0,16	0,84
C (tiges)	50	7,5	0,25	0,088	0,59
C (fruits verts)	50	7	13	4,6	32,8
D (feuilles)	50	10,8	0,2	0,07	0,32
D (tiges)	50	11	0,8	0,28	1,27
E (feuilles)	50	10	0,25	0,088	0,44
E (tiges)	50	9,5	0,4	0,14	0,74
E (fruits mûrs)	243	53,5	1,4	0,101	0,46

* Dosage effectué sur 1/20 de l'extrait total

** Taux exprimé en solasonine (PM : 884)

TOMATE (Solanum lycopersicum, var. esculentum)

Echantillon	Poids de plante traitée en g	Poids sec correspondant, en g	Volume de réactif titrant n ml *	Gluco-alcaloïdes en g pour 1000 g de plante verte	Gluco-alcaloïdes en g pour 1000 g de plante sèche
A (feuilles)	50	9,5	3,2	1,32 **	6,95 **
A (tiges)	50	8	1,6	0,66	4,12
B (feuilles)	50	9	5,5	2,28	12,7
B (tiges)	50	6,5	1,45	0,6	4,6
C (feuilles)	50	10	4,9	2,03	10,1
C (tiges)	50	7	2,9	1,2	8,57
C (fruits verts)	50	5	3,2	1,32	13,2
D (feuilles)	50	7	4	1,65	11,8
D (tiges)	50	8	1,65	0,68	4,25
E (feuilles)	50	9,5	3,8	1,57	8,26
E (tiges)	50	8	1,65	0,68	4,25
E (fruits mûrs)			0	0	0

* Dosage effectué sur 1/20 de l'extrait total

** Taux exprimé en tomatine (PM : 1034)

DOUCE-AMERE (Solanum dulcamara)

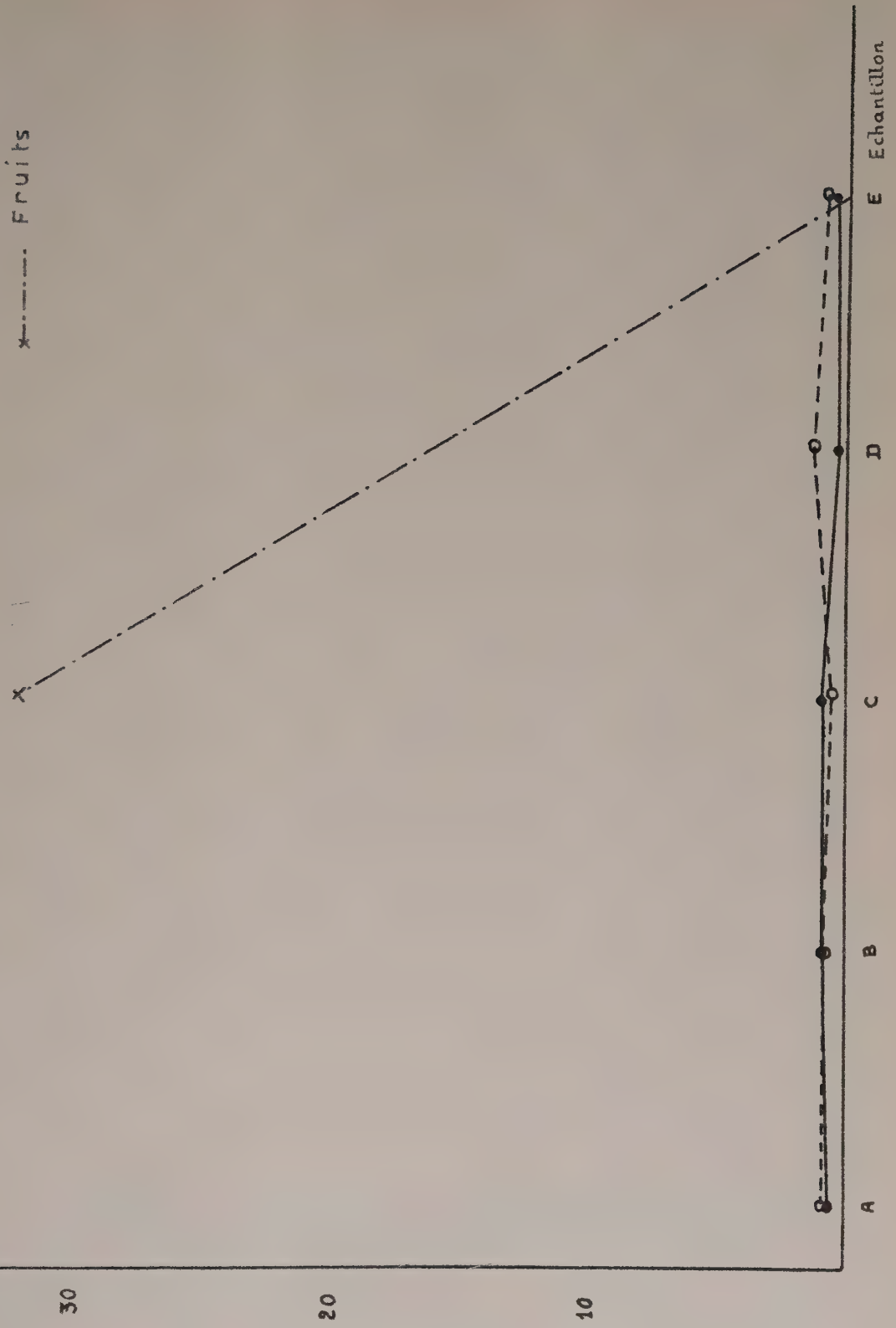
Echantillon	Poids de plante traitée en g	Poids sec correspondant, en g	Volume de réactif titrant n ml *	Glucos-alcaloïdes en g pour 1000 g de plante verte	Glucos-alcaloïdes en g pour 1000 g de plante sèche
A (feuilles)	50	15	15 **	5,31	17,7
A (tiges)	50	13,5	4,3	1,52	5,6
A (feuilles)	48	13	23	8,47	32,6
A (tiges)	23	7	4,8	3,69	13,2
B (feuilles)	50	14	17	6,02	21,5
B (tiges)	50	14	4,3	1,52	5,4
C (feuilles)	50	12,5	12	4,25	17
C (tiges)	50	13,8	3	1,06	3,85
D (feuilles)	50	10	7,8	2,76	13,8
D (tiges)	50	12	1,75	0,62	2,58
D (fruits verts)	50	9	19,5	6,9	38,3
D (tiges anciens)	50	18	12	4,25	11,8
E (feuilles)	50	13	14,5	5,13	19,2
E (tiges)	50	16	1,55	0,55	1,72
E (fruits mûrs)	0	0	0	0	0
E (feuilles)	50	11	15	5,31	24,1
E (tiges)	50	20,5	9,5	3,36	8,19

* Dosage effectué sur 1/20 de l'extrait total

** Taux exprimé en α -solamarine (PM : 884)

en g. pour 1000g.
de plante sèche

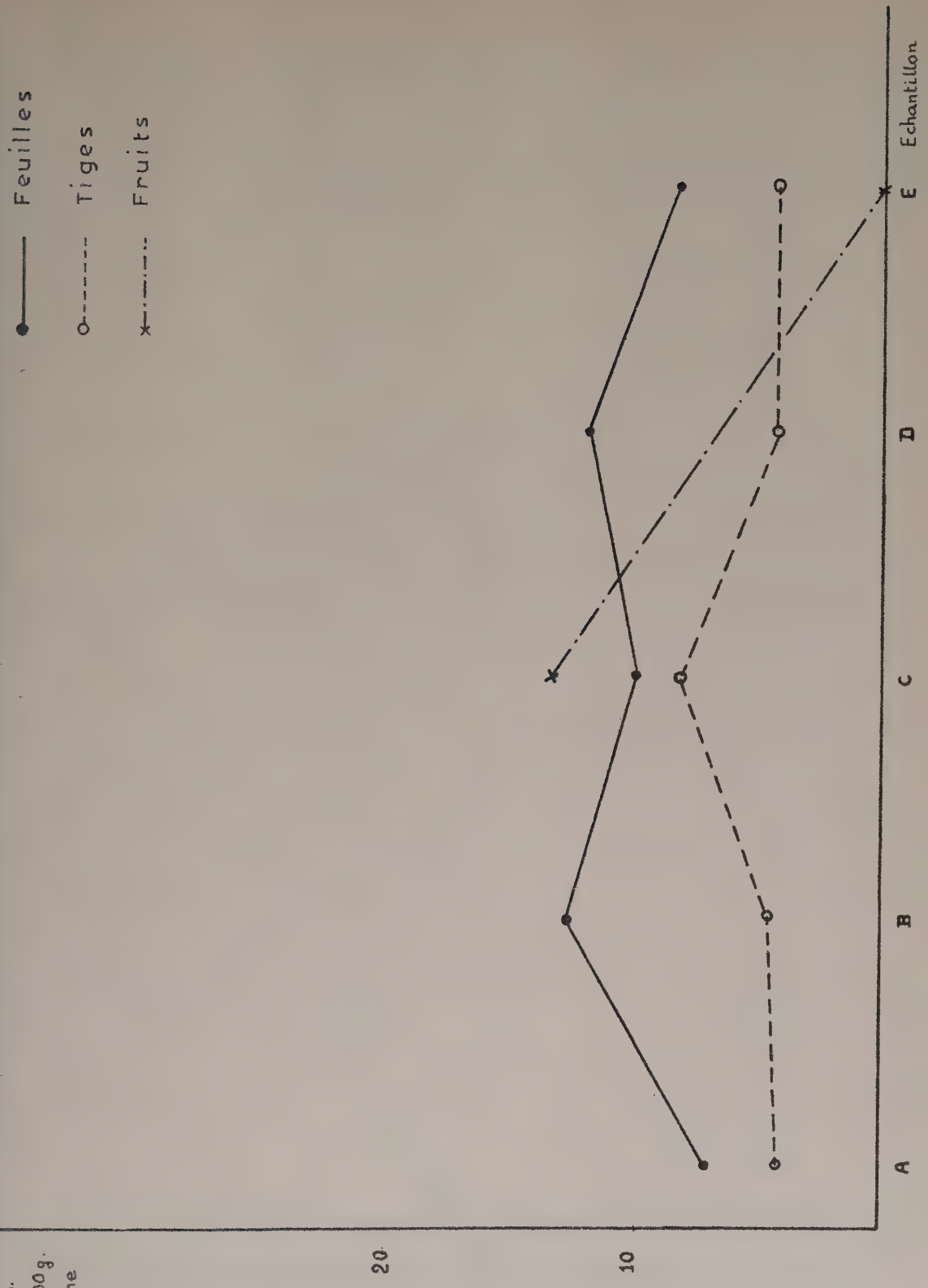
● Feuilles
○ Tiges
x Fruits



SOLANUM NIGRUM

E Echantillon

Taux de G-A.
en g. pour 1000 g.
de plante sèche

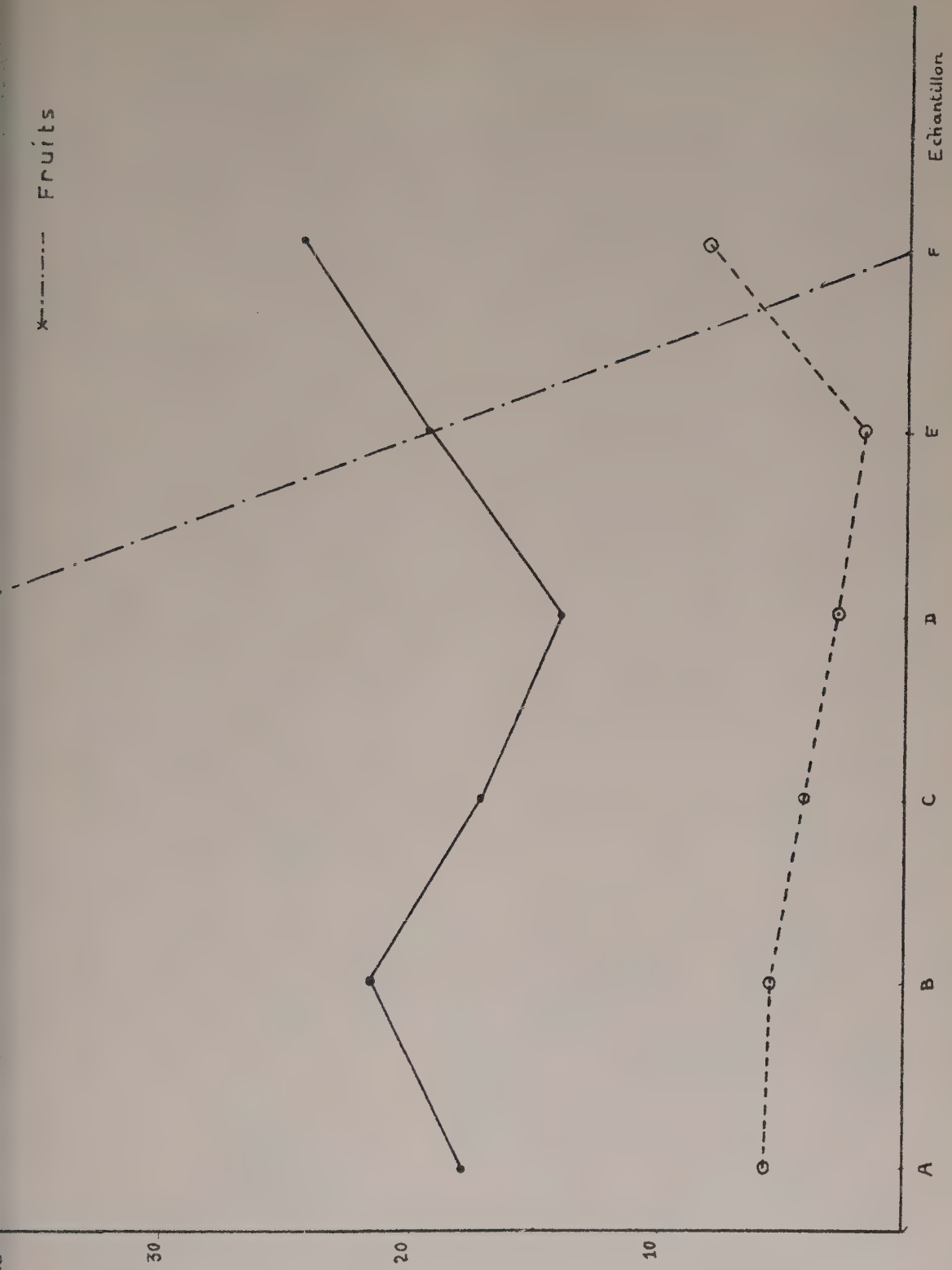


SOLANUM LYCOPERSICUM

sèche.

0 et 1

x----- Fruits



SOLANUM DULCAMARA

c) Résultats

Ils sont représentés sur les tableaux LIX, LX et LXI et les figures 67, 68 et 69.

A titre comparatif, nous indiquons les résultats obtenus par divers auteurs :

Morelle noire

Feuilles sèches	0 à 11 g/kg	SCHREIBER (375,383
Fruits verts	2 à 16 g/kg	id
Fruits mûrs	0	id
Plante entière fraîche	0,06 g/kg	MAKLEIT (268)
Fruits verts	42 g/kg	SABER (332)

Tomate

Plante entière sèche	1 à 20 g/kg	SCHREIBER (203,p.7
----------------------	-------------	--------------------

Douce-amère

Plante entière sèche	3,5 g/kg	SCHREIBER (374)
Plante entière fraîche	1,5 g/kg	MAKLEIT (268)
Fruits verts	1 à 6 g/kg	BOLL (46)

En ce qui concerne les variations de teneur en glucocalcoïdes avec la période de végétation, SANDER et ALKEMEYER (341) ont trouvé les teneurs suivantes, en g/kg :

	<u>Tiges</u>	<u>Feuilles</u>	<u>Fruits verts</u>
Août	0,7	11	19
Septembre		7	
Octobre		3,6	

Ils constatent dans les feuilles un maximum au moment de la maturation des fruits.

Au cours d'un travail ultérieur (342) ces auteurs ont constaté que les glucocalcoïdes disparaissent très rapide-

ment des fruits de Douce-amère au moment de la maturation. Nous avons alors fait la même constatation, et réalisé l'expérience suivante, afin de déterminer si cette chute du taux des gluco-alcaloïdes était due à leur migration vers les autres organes de la plante, ou à leur dégradation métabolique dans le fruit lui-même :

100 g de gros fruits verts de Douce-amère, privés de leurs pédoncules, ont été répartis en deux fractions égales : 50 g ont été stabilisés dès la récolte ; leur taux de gluco-alcaloïdes totaux était de 6,9 g par Kg de fruits verts. La seconde fraction de 50 g a été exposée à la lumière solaire dans un grand cristalliseur plat ; au bout de 48 h 90 % des fruits étaient parvenus à maturité complète ; après avoir éliminé ceux dont la maturation était moins avancée (fruits jaunes) nous avons effectué l'extraction des gluco-alcaloïdes suivant la méthode habituelle ; nous n'en avons pas trouvé de trace. D'autre part, le galactose et le rhamnose, constituants de la chaîne glucidique de la Douce-amère, n'ont pas été retrouvés dans le suc de fruit, avant ou après hydrolyse acide.

d) Essai d'interprétation des résultats

Le nombre des déterminations effectuées est statistiquement insuffisant pour permettre d'interpréter les variations du taux des gluco-alcaloïdes totaux au cours de la végétation. Nous dégagerons cependant quelques considérations générales :

1° Les organes végétatifs de la Douce-amère sont beaucoup plus riches en gluco-alcaloïdes que ceux de la tomate et de la Morelle. La Douce-amère pourrait donc éventuellement être utilisée comme source d'alcaloïdes stéroïdiques, en vue de l'hémisynthèse d'hormones sexuelles ou corticosurrénales.

2° Il semble que la synthèse des gluco-alcaloïdes s'effectue dans les tissus chlorophylliens ; l'histologiste WOTHTSCHALL (437) , étudiant les feuilles de solanées, a trouvé des gluco-alcaloïdes dans les cellules épidermiques, et plus particulièrement dans celles qui recouvrent les nervures. Les cellules exposées au soleil sont toujours les plus riches. La tige contient également des gluco-alcaloïdes dans les cellules épidermiques, mais aussi dans le parenchyme cortical et le parenchyme médullaire.

D'après nos résultats, il semble qu'il y ait au moment de la formation des fruits une mobilisation des gluco-alcaloïdes des organes végétatifs vers les organes de reproduction, où ils pourraient exercer un rôle métabolique.

3° Les fruits verts sont dans tous les cas les organes les plus riches en gluco-alcaloïdes. Ceux-ci disparaissent totalement à la maturation, sauf dans le cas de la Morelle. Cette disparition, très rapide, semble due à une dégradation métabolique des deux parties de la molécule de gluco-alcaloïdes, comme nous l'avons constaté dans l'expérience citée précédemment ; des considérations de même ordre ont été effectuées par divers auteurs (97, 316, 342) .

4° Un nouveau stockage des gluco-alcaloïdes s'effectue en fin de saison dans les tiges de la Douce-amère, sur lesquelles les jeunes bourgeons se développeront l'année suivante. Les gluco-alcaloïdes semblent jouer un rôle au cours du développement des méristèmes ; ainsi il est connu depuis longtemps que le taux des gluco-alcaloïdes est très élevé dans les germes de pomme de terre. La présence de grandes quantités de gluco-alcaloïdes autour des "points végétatifs" a été soulignée par GORIS (172) , qui considère les gluco-alcaloïdes comme des déchets. Avec ALBO (56, 57) , nous pensons plutôt qu'ils exercent un rôle métabolique.

C H A P I T R E I I

DOSAGE DES GLUCO-ALCALOIDES APRES SEPARATION

Les gluco-alcaloïdes, dont nous avons étudié le taux global dans les différents organes des *Solanum*, à différentes périodes de la végétation, subissent individuellement des variations qualitatives et quantitatives ; il est important de pouvoir déterminer les taux de chacun d'eux et leurs variations relatives, si l'on veut pénétrer plus profondément leur métabolisme.

Un double problème se pose en pratique : celui de leur séparation, et celui du dosage de faibles quantités. La séparation peut être réalisée par diverses méthodes, que nous avons étudiées avant d'adopter la chromatographie sur papier.

- ETUDE DE QUELQUES METHODES DE SEPARATION

Il est aisé de séparer les gluco-alcaloïdes de leurs aglucones : les premiers sont insolubles dans le chloroforme, dans l'acétone et dans d'autres solvants organiques où les seconds sont solubles. Ainsi ROOKE et coll. (329) séparent par l'acétone la solanidine des gluco-alcaloïdes de la Pomme de terre ; WOLF et DUGGAR (436) utilisent l'éther à chaud. Nous n'avons pas eu à utiliser ces méthodes car nous n'avons jamais trouvé d'aglucones libres dans un extrait de plante stabilisée immédiatement après la récolte.

Pour séparer les gluco-alcaloïdes, plusieurs types de méthodes ont été employées :

- la précipitation fractionnée par le cholestérol ;
- la chromatographie sur colonne ;
- la chromatographie sur couche mince.

a) Précipitation fractionnée sous forme de cholestérides

En 1909, WINDAUS (433) a constaté que la solanine et le cholestérol pouvaient s'associer en solution alcoolique pour former un composé insoluble. En 1957, SCHULZ et SANDER (385) ont obtenu la précipitation quantitative de la tomatine par le cholestérol, dans l'alcool à 95°, ce qui a conduit certains auteurs américains à adopter la tomatine pour précipiter le cholestérol libre dans les tissus animaux (205) . A la même époque, SCHREIBER (375) préparait les cholestérides de la démissine de *S. demissum* et de la β -solanigrine de *S. nigrum*.

SANDER et ALKEMEYER (60, 337, 341) ont longuement étudié le composé d'addition qui se forme entre cholestérol et gluco-alcaloïdes de la Douce-amère ; ils ont observé qu'on pouvait précipiter sous forme de cholestérides 85 à 90 % des gluco-alcaloïdes de certains échantillons alors que d'autres ne donnaient aucun précipité, bien que la chromatographie décèle la présence de gluco-alcaloïdes. Ces auteurs ont supposé que la formation du cholestéride était liée à la longueur de la chaîne glucidique et à la présence ou à l'absence d'une double liaison en 5-6.

Il semblait donc possible de séparer et de doser des gluco-alcaloïdes de structures différentes par précipitation fractionnée à l'aide du cholestérol. Nous avons effectué un essai sur un échantillon de Douce-amère, en suivant la méthode de SANDER. Une étude chromatographique du précipité a permis de déceler quatre gluco-alcaloïdes différents, mais les mêmes ont été retrouvés dans le filtrat ; le rendement de précipitation variait légèrement de l'un à l'autre, de façon insuffisante toutefois pour servir de base à un dosage sélectif.

b) Chromatographie sur colonne

Plusieurs auteurs (93, 375, etc...) ont employé la chromatographie sur colonne pour séparer les gluco-alcaloïdes de

Solanum. La technique utilisée en général est celle de KUHN et LOW (229) : la colonne est préparée avec de l'alumine ALCOA, et le solvant d'élution est le n-butanol saturé d'eau. Cette méthode convient à la séparation de quantités importantes de gluco-alcaloïdes, en vue d'une étude de structure, mais ne semble pas se prêter aux dosages de faibles quantités.

c) Chromatographie sur couche mince

Cette méthode de séparation a été employée par SANDER (341) et BOLL (97) sur les gluco-alcaloïdes de la Douce-amère.

Comme ces auteurs, nous avons utilisé comme adsorbant la silice (Kiesel Gel PLEUGER) activée à 110°.

Pour la séparation des gluco-alcaloïdes, deux solvants ont été essayés :

<u>Solvant</u> (1)	Acétate d'éthyle	1050
	Pyridine	300
	Eau	345
	(Phase organique)	

Solvant (2) (d'après STAHL)

Diéthylamine	2 g
Acétone	50 ml
Méthanol	50 ml

Après séchage à l'étuve, les gluco-alcaloïdes présentent une fluorescence bleue en lumière de WOOD que WOLF et DUGGAR (436) avaient observé sur une solution chlorhydrique de solanine.

On peut aussi révéler les taches de gluco-alcaloïdes par le réactif de DRAGGENDORFF ou par l'iodoplatinate de potassium. Nous avons employé une solution chloroformique à 0,01 % de bleu de bromophénol ; après pulvérisation du réactif, le

fond du chromatogramme, d'abord uniformément bleu, blanchit rapidement, mais les spots restent colorés en bleu foncé ; la coloration est stable pendant plus d'un mois.

Nous avons obtenu de bonnes séparation par chromatographie sur couche mince, en particulier à l'aide du solvant (1). La méthode est simple et rapide, mais elle ne peut que difficilement être appliquée à des fins quantitatives, l'élution des gluco-alcaloïdes étant délicate et entraînant des impuretés du Kiesel Gel.

B - ETUDE DE LA CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

Les méthodes de séparation précédemment indiquées ne donnant pas satisfaction, nous avons étudié plus spécialement la chromatographie sur papier, d'abord sur un plan qualitatif, avant d'aborder son application au dosage des gluco-alcaloïdes séparés.

I - Chromatographie qualitative

A cause de l'influence de leur chaîne glucidique, les gluco-alcaloïdes ne se comportent pas comme les autres alcaloïdes au cours de la chromatographie de partage, et les solvants employés habituellement pour les alcaloïdes, comme le solvant de PARTRIDGE, les séparent très mal. Plusieurs auteurs (93, 117) ont mentionné la difficulté d'obtenir des résultats fidèles par cette méthode. Récemment, des résultats satisfaisants ont été obtenus par PASESHNICHENKO (296) et surtout par SCHREIBER (375, etc) ; après de nombreux essais nous sommes parvenus à mettre au point une méthode convenable de séparation des gluco-alcaloïdes de Solanum.

α - Papier

Nous avons employé le papier SCHLEICHER et SCHULL 2043 b, imprégné de phosphate monopotassique (PASESHNICHENKO 296) ; la chromatographie étant effectuée à front perdu, nous décou-

pons des franges à la partie inférieure de la feuille de papier. La ligne de départ et l'emplacement des spots sont marqués sur la feuille, puis celle-ci est immergée pendant une demi-heure dans une solution aqueuse M/2 de phosphate monopotassique, égouttée et séchée à l'étuve à 100° pendant une demi-heure.

- Solvant

Un certain nombre de systèmes de solvants ont été proposés pour séparer les gluco-alcaloïdes.

Acétate d'éthyle/pyridine/eau	(3/1/3)	(SCHREIBER) (375)
" " " "	(2/1/2)	(ALKEMEYER) (60)
" " " "	(8/2/1)	(SCHREIBER) cf.(268) pour les triosides
" " " "	(24/8/5)	(SCHREIBER) cf.(268) pour les tétraosides
" " " "	(11/2/2)	(PASESHNICHENKO) (296)
n-Butanol/acide citrique/eau	(50/1/50)	(CURRY et POWELL) cf(268)
" acide acétique "	(40/8/20)	(SZENDEY) (404)
Acétate d'éthyle/acide acétique/ eau	(3/1/3)	(KUHN et LOW) (229)
(phase supérieure + 15% éthanol)		
Acétate d'éthyle/acide acétique/ éthanol/acide chlorhydrique/eau		(BAGGESGAARD-RASMUSSEN) (68)
Benzène/chloroforme ou toluène/ chloroforme, saturé de formamide (sur papier imprégné de formamide)		(TUSZON) (416)

Après de nombreux essais sur ces solvants et sur d'autres, dont la plupart étaient à base d'acétate d'éthyle, de pyridine et d'eau, nous avons retenu la formule suivante* qui

* Nous remercions notre ami M. GIROD, assistant au laboratoire de Matière médicale, pour l'aide qu'il nous a apporté au cours de ces essais. Il a en particulier mis au point la formule du solvant adopté pour notre étude générale.

nous a donné les meilleurs résultats.

Acétate d'éthyle	1050
Pyridine	300
Eau	345

Un solvant presque identique a été utilisé par P.M. BOLL pour la séparation des sucres (96) .

γ - Technique

Les chromatographies ont été effectuées suivant la technique descendante dans de grandes cuves en verre à cadre de bois (LABOMATIC), dans une salle à température constante (25°). Les résultats obtenus ne sont fidèles que lorsque la cuve a contenu du solvant pendant plusieurs jours. Après avoir déposé les mélanges et disposé les feuilles de papier dans la cuve, l'atmosphère de celle-ci est saturée pendant une nuit avec la phase organique et la phase aqueuse. La durée de migration est 24 heures. Le front de solvant passe le niveau des franges au bout de 12 heures environ.

Les chromatogrammes, retirés de la cuve, ont été séchés à 100° en étuve ventilée.

δ - Révélation

On a proposé pour révéler les taches de gluco-alcaloïdes le réactif de MUNIER-MACHEBOEUF (68, 259) , le réactif de CARR et PRICE (151, 296, 416) ou l'acide phosphomolybdique en solution acétonique (229) . Après avoir essayé ces réactifs, ainsi que l'iodo-platinate de potassium, nous avons définitivement adopté une méthode de révélation basée sur l'emploi du bleu de bromophénol. Cette méthode, que nous avons publiée en 1961 (152) présente sur les autres l'avantage de la sensibilité et de la spécificité ; les chromatogrammes peuvent être conservés indéfiniment sans altération ; la technique en est la suivante : on pulvérise sur le chromatogramme sec une solution

M/2 de phosphate monopotassique, jusqu'à ce que celle-ci ne se colore plus en bleu au cours du lavage ; on essore ensuite le chromatogramme entre deux feuilles de papier filtre et on le sèche à l'étuve à 100°.

Les spots apparaissent nettement colorés en bleu au moment du lavage par la solution de phosphate monopotassique. L'eau, solvant dissociant, augmente l'acidité de la fonction acide faible du colorant par rapport au gluco-alcaloïde, permettant ainsi leur combinaison quantitative ; le complexe formé, presque insoluble dans l'eau, reste adsorbé sur le papier. La sensibilité est de l'ordre de 5 microgrammes.

e - Expression des résultats

Les différentes substances séparées par chromatographie sur papier sont en général caractérisés par leur Rf :

$$Rf = \frac{\text{Distance parcourue par la tache}}{\text{Distance parcourue par le front de solvant}}$$

Lors d'essais préliminaires, nous avons constaté que si les aglucones ont un Rf de 0,95 environ, les produits d'hydrolyse partielle des Rf variant entre 0,80 et 0,40 suivant le gluco-alcaloïde considéré et le degré d'hydrolyse, les Rf des gluco-alcaloïdes sont faibles (0,25 à 0,10) et voisins les uns des autres. Aussi avons-nous adopté la chromatographie à front perdu, mais il est alors impossible d'identifier les spots par leur Rf. Cet inconvénient peut être pallié en déposant sur chaque chromatogramme, en plus des mélanges à étudier, un spot témoin d' α -solanine ; nous avons désigné, comme la plupart des auteurs, les différents gluco-alcaloïdes par leur R α -sol :

$$\alpha\text{-sol} = \frac{\text{Distance parcourue par le spot de gluco-alcaloïde inconnu}}{\text{Distance parcourue par un spot témoin d' } \alpha\text{-solanine}}$$

Au cours de nombreux essais dans les conditions indiquées les valeurs des R_{α} -sol se sont révélées inconstantes comme l'ont constaté d'autres auteurs (93, 117). Il est préférable pour comparer deux mélanges gluco-alcaloïdiques ou pour identifier leurs constituants, de chromatographier mélanges et témoins sur la même feuille de papier. Même dans ces conditions, les valeurs de R_{α} -sol sont trop proches les unes des autres pour qu'il soit permis d'affirmer avec certitude que deux gluco-alcaloïdes de même R_{α} -sol sont identiques.

La chromatographie sur papier permet donc au mieux de dénombrer les gluco-alcaloïdes d'un mélange, si le pouvoir séparateur du solvant est suffisant, et de les désigner arbitrairement par la valeur de leurs R_{α} -sol. Elle est insuffisante pour leur identification.

II - Chromatographie quantitative

La chromatographie quantitative est cependant possible, pour une étude comparative telle que celle que nous envisageons. Les gluco-alcaloïdes identifiés par une autre méthode se retrouvent même si leur R_{α} -sol varie légèrement, toujours dans le même ordre avec un même solvant.

Trois méthodes ont été essayées pour doser les gluco-alcaloïdes séparés par chromatographie sur papier :

a) Elution du gluco-alcaloïde, suivie d'un dosage par le bleu de bromophénol

Les spots de gluco-alcaloïdes peuvent être localisés sur le papier, par comparaison avec un chromatogramme témoin, révélé par le bleu de bromophénol ; on pourrait en principe les découper, les éluer par du méthanol et doser volumétriquement le résidu d'évaporation. En pratique, la quantité de gluco-alcaloïde est trop faible pour permettre une précision suffisante.

Le dosage colorimétrique par le B.B.P., que nous avons employé avec succès pour les alcaloïdes solubles dans le chloroforme, ne peut être appliqué aux gluco-alcaloïdes, dont les seuls solvants : solvant de GYENES, alcools légers, sont basiques et donnent une coloration jaune intense avec le B.B.P., en l'absence d'alcaloïdes. En outre le phosphate monopotassique qui imprègne le chromatogramme apporte une erreur par excès.

b) Dosage colorimétrique direct sur le papier, après coloration par le bleu de bromophénol

Des chromatographies descendantes ont été réalisées sur des bandes de papier de 4 cm de large et de 40 cm de long, terminées en pointe pour permettre l'écoulement régulier du solvant. Le mélange de gluco-alcaloïdes est déposé suivant un

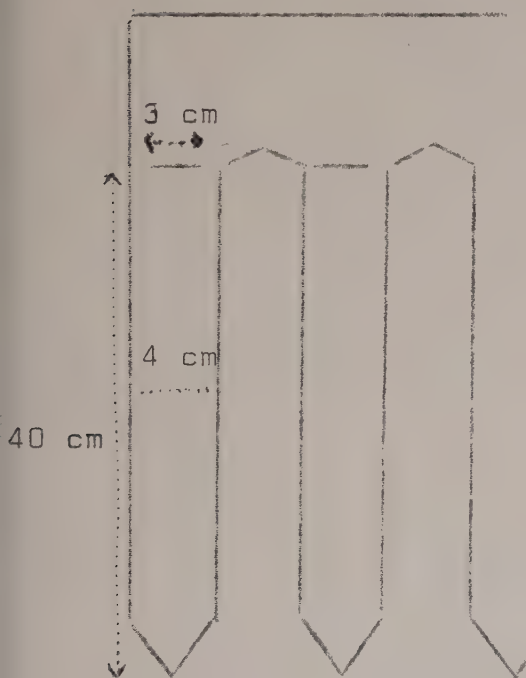


figure 70

trait horizontal de 3 cm de long, à la partie supérieure de la bande (figure 70) ; on effectue la chromatographie comme il a été indiqué précédemment ; après séchage, les bandes sont détachées, plongées pendant 30 secondes dans une solution chloroformique de B.B.P. à 0,05 g %, séchées et lavées à plusieurs reprises avec du phosphate monopotassique M/2 dans l'eau jusqu'à ce que le fond du chromatogramme soit blanc ; les bandes sont alors séchées à l'étuve, imprégnées sous vide avec de l'huile de vaseline, à l'aide d'un appareil "TRANSPAVAC", et les densités optiques des taches aux différents niveaux de chaque bande sont mesurées à l'aide

d'un "INTEGRAPH" ELPHOR qui enregistre et intègre les courbes représentatives de ces densités. Nous avons reproduit à titre d'exemple, deux de ces courbes sur la figure 71.

Afin de connaître la précision de cette méthode, nous l'avons testée sur des bandes témoins portant des quantités connues de tomatine, en effectuant chromatographie, coloration et lavage dans des conditions uniformisées. Les résultats sont représentés sur le tableau LXII et la figure 72.

c) Elution des taches après coloration par le bleu de bromophénol et dosage colorimétrique

L'élution est pratiquée avec une solution aqueuse M/10 de carbonate disodique, où le bleu de bromophénol se dissout sous forme d'ions C^{2-} , dosables colorimétriquement à 600 m μ .

Comme précédemment nous avons étudié la précision de la méthode en réalisant l'expérience sur des quantités connues de tomatine ; pour cela nous avons repris les bandes qui avaient servi à la mesure des colorations sur papier ; nous les avons rincées au xylène pour éliminer l'huile de vaseline, puis nous avons découpé les spots ; nous avons élué le bleu de bromophénol par 5 ml de solution M/10 de carbonate disodique, ajoutés par petites fractions, sur un filtre d'ALHIN, de porosité 4, pour éliminer les fibres de papier. Nous avons mesuré les densités optiques à 600 m μ des solutions bleues obtenues, et nous en avons déduit la densité optique d'un "blanc" effectué sur un fragment du chromatogramme de même surface que les spots, mais ne portant pas de gluco-alcaloïde la densité optique de ce "blanc" était de 0,168.

Les résultats sont reportés sur le tableau LXII et la figure 72.



Echantillon E



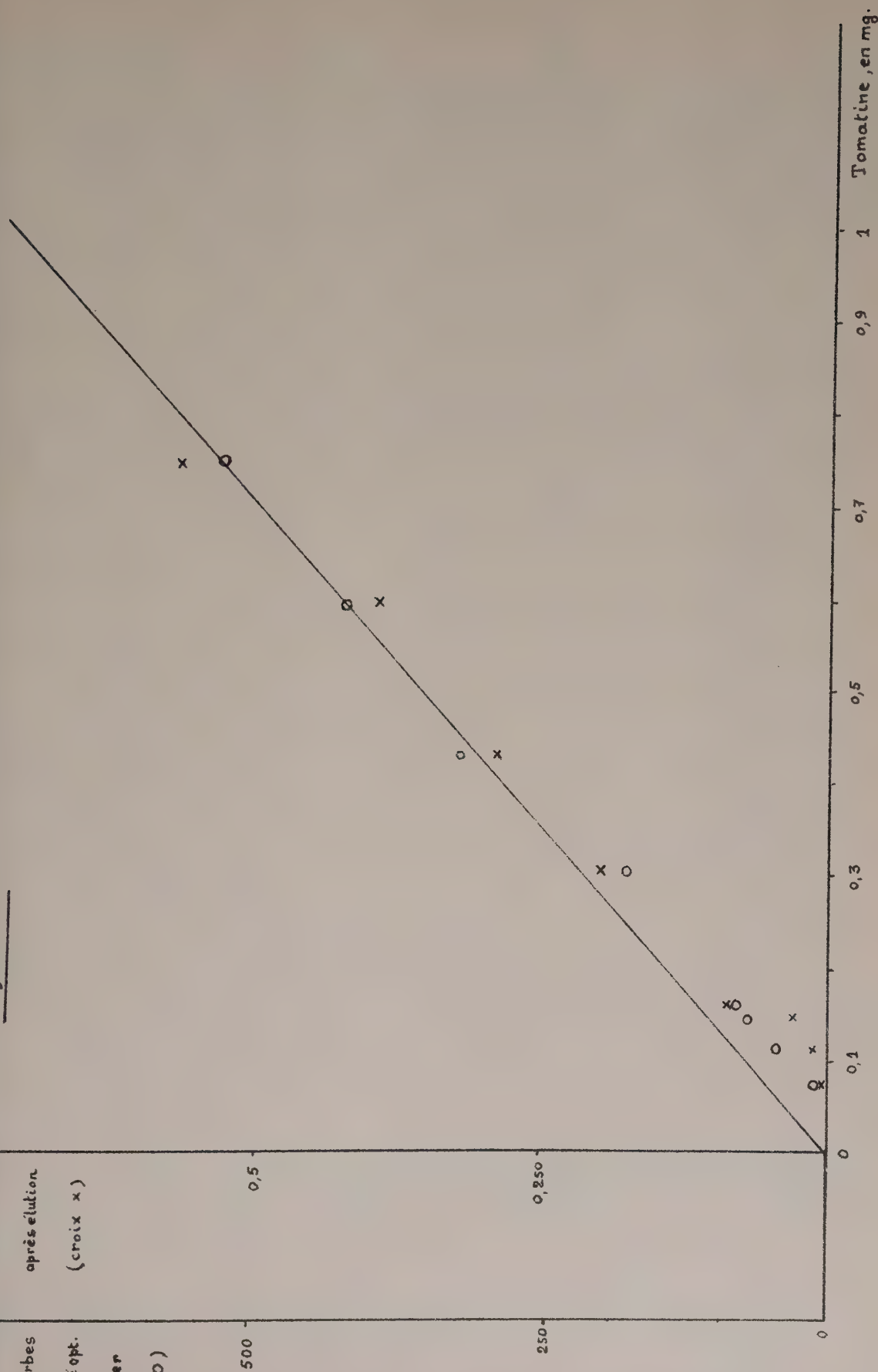
Echantillon F

SOLANUM DULCAMARA - TIGES

surface (en mm²)
sur courbes
densité opt.
papier
cercles O)

D_{opt.} à 600mμ
après élution
(croix x)

Figure 72



Les deux dernières méthodes sont identiques en ce qui concerne leur précision ($\pm 10\%$ environ), suffisante pour le but recherché et leur sensibilité (0,1 à 1 mg) ; nous avons choisi la méthode de dosage colorimétrique direct sur papier, à cause de sa simplicité et sa rapidité.

T A B L E A U L X I I

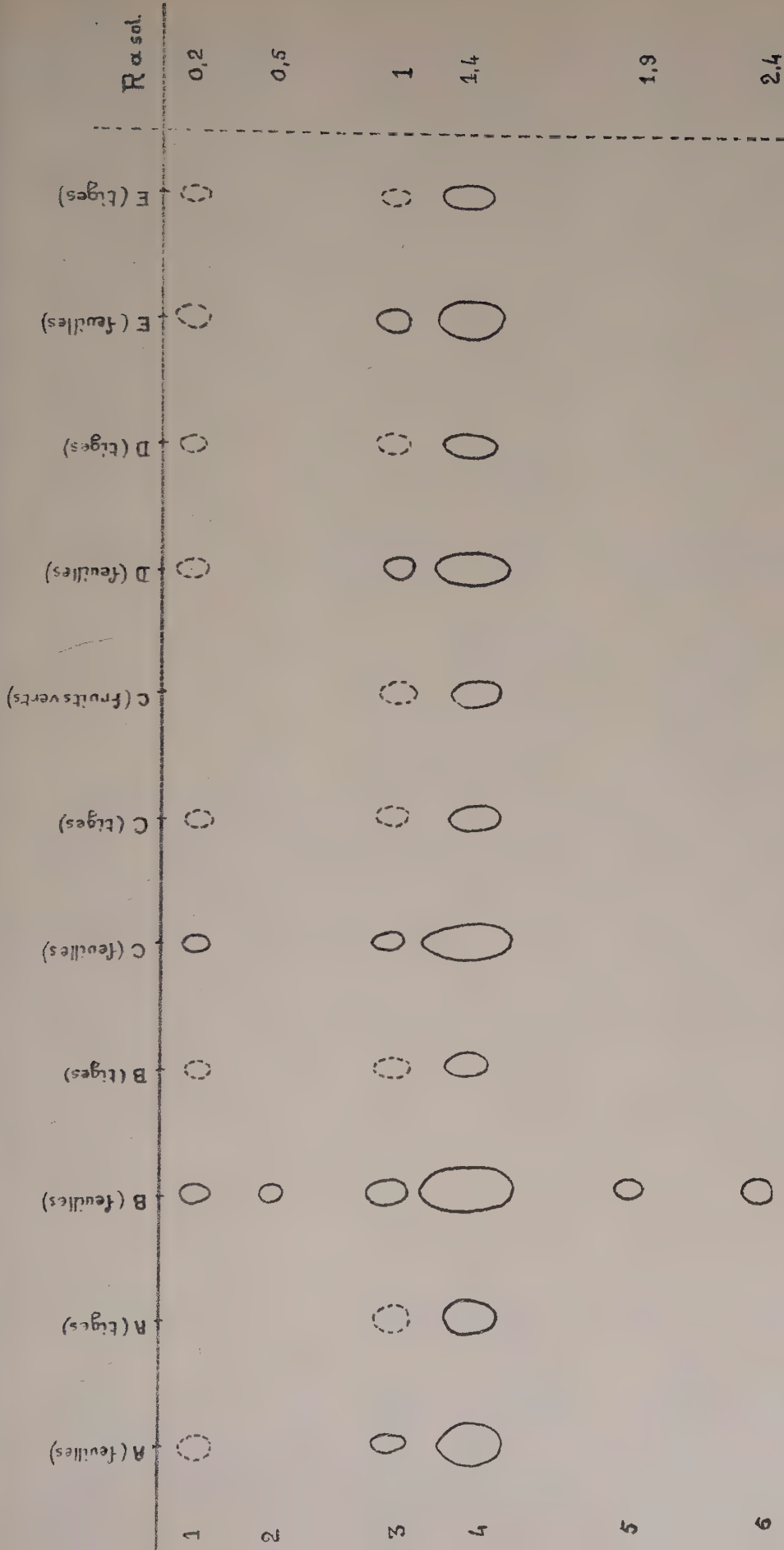
Quantité de tomatine: (en μg)	Lecture directe sur: papier (en mm^2)	Densité optique du liquide d'élution à 600 m μ : (diminuée de la densité optique du "blanc")
77	15	0,010
108	40	0,015
140	75	0,039
155	85	0,091
310	180	0,200
465	380	0,332
620	452	0,422
775	558	0,602
1550	940	0,782

III - Résultats

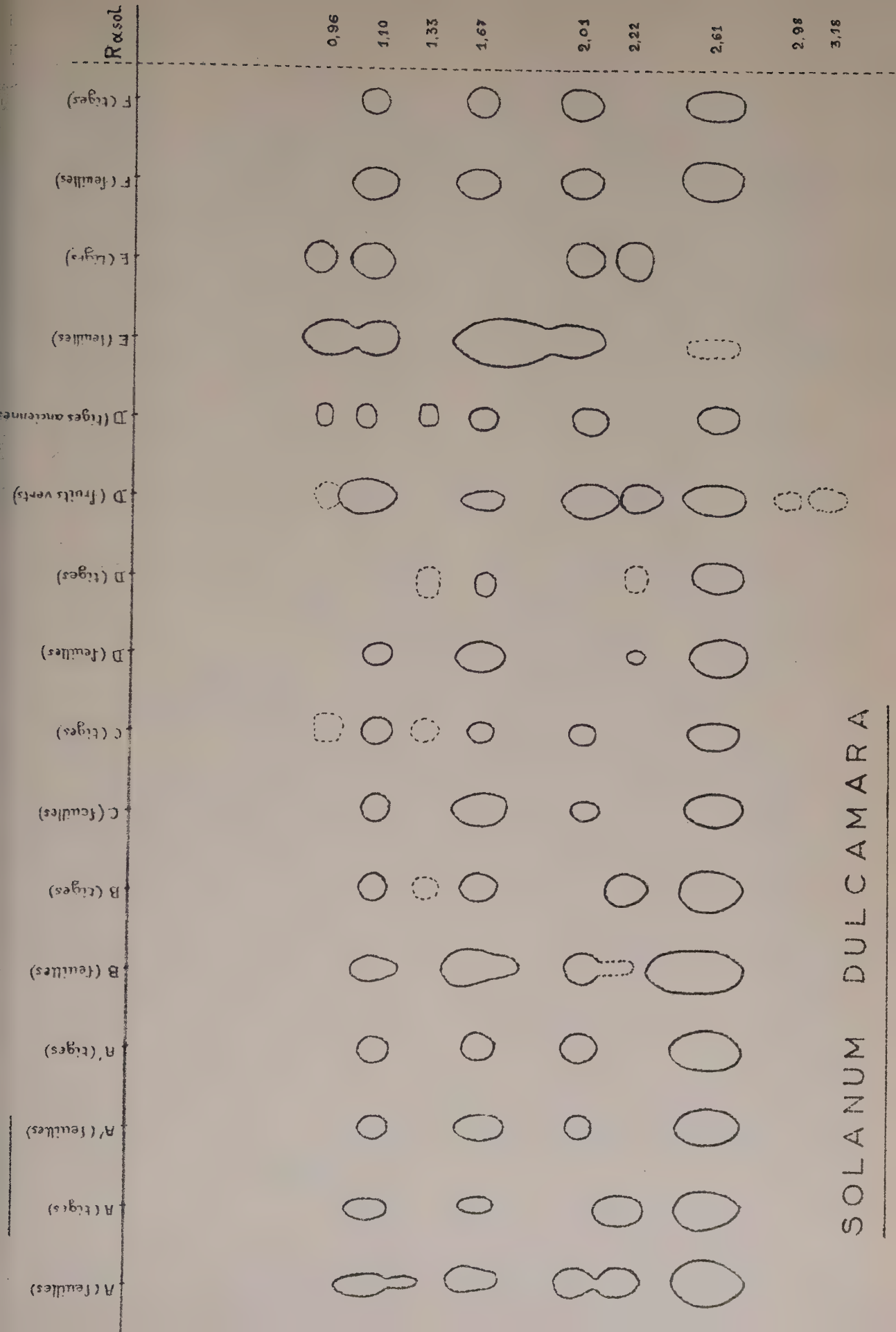
a) Résultats qualitatifs

Les chromatogrammes obtenus avec les différents échantillons étudiés ont été représentés sur les figures 73, 74 et 75. Les R α -sol des différentes taches sont indiqués en marge des figures.

En comparant ces résultats à ceux publiés antérieurement, il est possible d'émettre des hypothèses sur la nature des gluco-alcaloïdes isolés.



SOLANUM LYCOPERSICUM



SOLANUM DULCAMARA

α - Morelle noire

La séparation chromatographique des gluco-alcaloïdes de la Morelle a été effectuée par divers auteurs :

SCHREIBER (375) a séparé 6 gluco-alcaloïdes : " α , β , γ , δ , ϵ , et ζ -solanigrines", dont les plus abondantes étaient la γ , la δ et l' ϵ -solanigrines, qu'il a identifiés respectivement avec la solasonine, la solamargine et la β -solamargine :

Solasonine = Solasodine - Galactose - Glucose - Rhamnose

Solamargine = Solasodine - Glucose $\left\{ \begin{array}{l} \text{Rhamnose} \\ \text{Rhamnose} \end{array} \right.$

β -Solamargine = Solasodine - Galactose - Rhamnose

La répartition dans les organes de la plante est :

	<u>Solasonine</u>	<u>Solamargine</u>	<u>β-Solamargine</u>
<u>Feuilles</u>	+ +	+ +	+
<u>Fruits verts</u>	+ +	+ +	

Des résultats analogues ont été publiés par BOLL (93) (solamargine et peut-être solasonine dans les feuilles), BRIGGS et CAMBIE (117) (solamargine dans les fruits verts), MAKLEIT et coll. (268) (solamargine et solasonine), SABER et coll. (332) (solamargine et solasonine dans les fruits verts).

Les six spots séparés par notre méthode sont vraisemblablement identiques aux "solanigrines" de SCHREIBER. Les deux plus importants, que nous retrouvons dans tous les échantillons, sont très probablement la solasonine ($R_{\alpha\text{-sol}}$: 1,05) et la solamargine ($R_{\alpha\text{-sol}}$: 2) ; les autres spots n'ont pas été identifiés, mais il semble que ceux présentant les plus grands $R_{\alpha\text{-sol}}$ correspondent à des produits d'hydrolyse partielle des premiers.

La chromatographie des sucres obtenus par hydrolyse totale du bloc gluco-alcaloïdique a montré la présence de glucose, galactose et rhamnose.

β - Tomate

En 1959, SCHREIBER (203, p. 75) a présenté l'étude d'un grand nombre de mutants de *S. lycopersicum* ; l'auteur a séparé par chromatographie sur papier quatre gluco-alcaloïdes :

Tomatine = Tomatidine - Galactose - Glucose $\begin{matrix} \swarrow \text{Glucose} \\ \searrow \text{Xylose} \end{matrix}$

et son produit d'hydrolyse partielle, la β -tomatine, exempte de xylose :

Demissine (?) = Demissidine - Galactose - Glucose $\begin{matrix} \swarrow \text{Glucose} \\ \searrow \text{Xylose} \end{matrix}$

et la β -demissine, exempte de xylose.

Par chromatographie de nos échantillons, nous avons mis en évidence six spots dont le plus important, qui représente 80 à 95 % du bloc gluco-alcaloïdique, est certainement la tomatine : son R_{α} -sol est identique à celui de la tomatine commerciale, et son hydrolyse acide libère du glucose, du galactose et du xylose. Parmi les autres gluco-alcaloïdes séparés, trois ont un R_{α} -sol inférieur à celui de la tomatine ; il peut s'agir de dérivés de la demissine, mais les éléments apportés par la littérature ne permettent pas de tirer de conclusions sur leur nature.

γ - Douce-amère

La douce-amère a été étudiée chromatographiquement par un certain nombre d'auteurs ; leurs résultats n'étant pas toujours en accord, le problème de l'identité botanique de leurs échantillons a été discuté par ALKEMEYER et SANDER (203, p.23) et par BOLL (97), qui ont supposé que la composition en gluco-alcaloïdes pouvait varier avec l'origine de la plante.

Deux groupes principaux de gluco-alcaloïdes ont été mis en évidence :

- ceux dont l'aglucone, appelé parfois "soladulcidine", est le 5 α -solasodanol, qui ne diffère de la tomatidine que par les caractères stériques du cycle F. En 1958, SCHREIBER (374) séparait par chromatographie sur papier trois gluco-alcaloïdes : α , β , et γ -soladulcines, comportant cet aglucone ; la chromatographie des sucres après hydrolyse totale révélait la présence de glucose, galactose, rhamnose et xylose. En 1959, SANDER et coll (337) isolaient l'un de ces gluco-alcaloïdes, le soladulcidine-tétraoside, dont la chaîne glucidique est composée de deux molécules de glucose, une de galactose et une de xylose. En 1962 (341) ils séparaient quatre gluco-alcaloïdes ainsi répartis dans la plante :

<u>Organe</u>	<u>Rf</u>		
Tige	0,3	0,55	0,65
Feuille	0,3	0,45	(0,65)
Fruit vert	0,3	0,45	0,65

(Solvant : acétate d'éthyle/pyridine/eau (2/1/2)).

Les mêmes gluco-alcaloïdes ont été caractérisés dans la douce-amère par MAKLEIT (268) .

- ceux dont l'aglucone est le Δ_5 -tomatidenol ; les gluco-alcaloïdes de ce groupe, séparés en 1962 par BOLL (96) sont :

<u>Gluco-alcaloïde</u>	<u>Chaîne glucidique</u>
Soladulcamarine	1 glucose, 2 rhamnose, 1 arabinose
α -solamarine	galactose - glucose - rhamnose
β -solamarine	glucose < rhamnose rhamnose
γ -solamarine	glucose - rhamnose

La douce-amère peut aussi contenir des gluco-alcaloïdes dont l'aglucone est la solasodine : il s'agirait, d'après TOMOVA (409, 410) de la solasonine et de la β -solamargine.

En 1962, BOLL (97) séparait par chromatographie sur couche mince quatre gluco-alcaloïdes de *S. dulcamara* ; après hydrolyse totale il trouvait un mélange de quatre aglucones : solasodine, 5 α -solasodanol, Δ -5-tomatidenol et tomatidine.

La méthode chromatographique ne peut permettre seule d'identifier les neuf spots isolés au cours de nos expériences ; dans les produits d'hydrolyse totale, nous n'avons trouvé que le glucose, le galactose et le rhamnose ; la comparaison des chromatographies de gluco-alcaloïdes et de sucres obtenues à partir de *S. nigrum* et *S. dulcamara* permet de supposer que les spots 2 et 5 (R α -sol : 1,1 et 1,67) sont respectivement la solasonine et la solamargine ; les autres spots peuvent être des solamarines et des produits d'hydrolyse partielle ; mais il est impossible de déterminer leur nature sur simple examen des chromatogrammes.

En conclusion, la méthode chromatographique s'est avérée très bonne pour séparer les gluco-alcaloïdes de *Solanum* ; elle ne peut cependant suffire pour leur identification.

b) Résultats quantitatifs

Les résultats obtenus pour les feuilles et les fruits de Morelle, les feuilles, les fruits et les tiges de Douce-amère, sont représentés sur les tableaux LXIII, LXIV, et LXV. Le taux très faible des gluco-alcaloïdes dans les tiges de Morelle, n'a pas permis de les doser après séparation. Quant à la tomate, elle contient presque exclusivement de la tomatine quels que soient l'organe étudié et la période de la récolte.

A notre connaissance, SANDER et coll. (341) sont les seuls auteurs qui aient effectué des dosages de gluco-alcaloïdes après séparation, par précipitation fractionnée sous forme de cholestérides ; l'étude a porté sur des échantillons de Douce-amère, contenant en majeure partie le soladulcidine-tétraoside, que nous n'avons pas trouvé au cours de nos expériences ; il n'est donc pas possible de comparer nos résultats et ceux de ces auteurs.

Le nombre des mesures effectuées au cours de nos expériences est statistiquement insuffisant pour permettre de tirer des conclusions sur les transformations des gluco-alcaloïdes aux différentes étapes de la végétation ; dans le cas de la Douce-amère en particulier, la récolte des échantillons n'a pas toujours été effectuée sur un même gisement ; or l'hétérogénéité biochimique possible de l'espèce, que nous avons signalées ci-dessus, nécessiterait que toutes les déterminations soient faites sur une même plante de race pure. Nos résultats ne peuvent donc que constituer un élément dans une étude statistique plus étendue.

A titre d'exemple, nous avons tracé les courbes des variations des gluco-alcaloïdes des feuilles de Morelle, dont tous les échantillons ont été prélevés sur un même gisement, soit en pourcentages des gluco-alcaloïdes totaux (figure 76), soit en poids par kg de plante sèche (figure 77).

La méthode de dosage colorimétrique sur papier, après chromatographie et coloration par le bleu de bromophénol, peut donc être employée avec succès pour l'étude des variations du taux de chaque gluco-alcaloïde dans les différents organes de *Solanum*, aux différentes étapes de la végétation.

TABLEAU LXIII

MORELLE NOIRE

(Dosage des gluco-alcaloïdes après séparation)

F E U I L L E S									
Echantillons									
	A		B		C		D	E	
	I*	II*	I	II	I	II	I	II	
(R α-sol : 0,7)									
(" : 1)	86	0,46	71	0,49	26,4	0,21	≈ 30	0,1	59,2
(" : 1,3)									
(" : 1,7)					7,7	0,07	≈ 20	0,06	
(" : 2)	14	0,07	29	0,21	31,6	0,29	≈ 30	0,1	40,8
(" : 2,6)					14,3	0,11			

* I : taux en pourcentage des gluco-alcaloïdes totaux
II : taux en g par kg de plante sèche
Ces taux sont exprimés en solasonine

DOUCE-AMERE

(Dosage des gluco-alcaloïdes après séparation)

[illegible]

* I : taux en pourcentage des gluco-alcaloïdes totaux

* II: taux en g par kg de plante sèche

Ces taux sont exprimés en α -solamarine

DOUCE-AMERE

(Dosage des gluco-alcaloïdes totaux après séparation)

TIGES DE L'ANNEE														TIGES
Echantillons														ANCIENNE
														D
A														F
B														E
C														I
D														II
E														I
F														II
I*														I
II*														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II
I														I
II														II

* I : taux en pourcentage des gluco-alcaloïdes totaux
 II : taux en g par kg de plante sèche
 Ces taux sont exprimés en α-solamarine

Taux de G.A. en pourcentage
par rapport au taux de
G.A. totaux

80

60

40

20

A

B

C

D

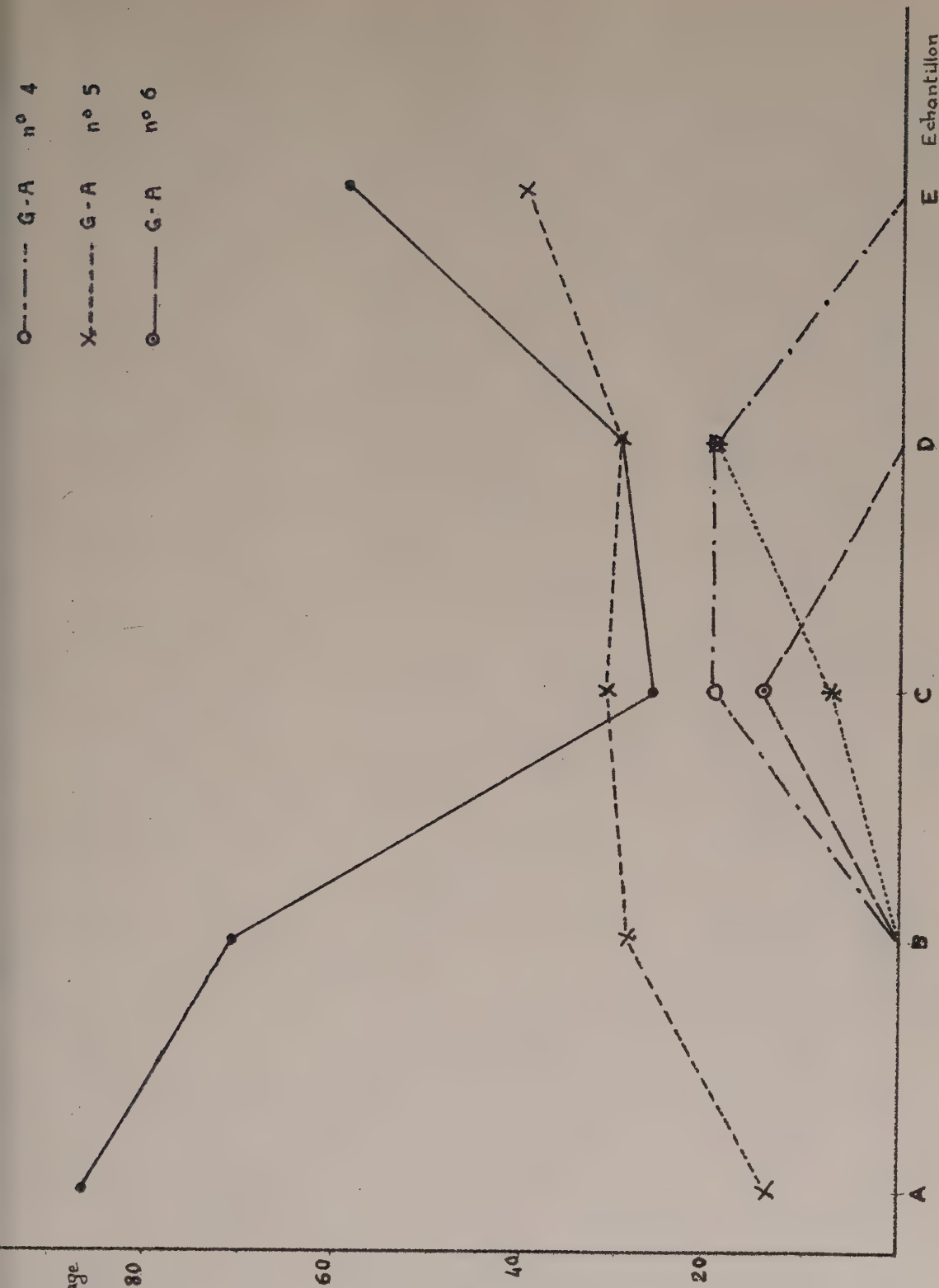
E

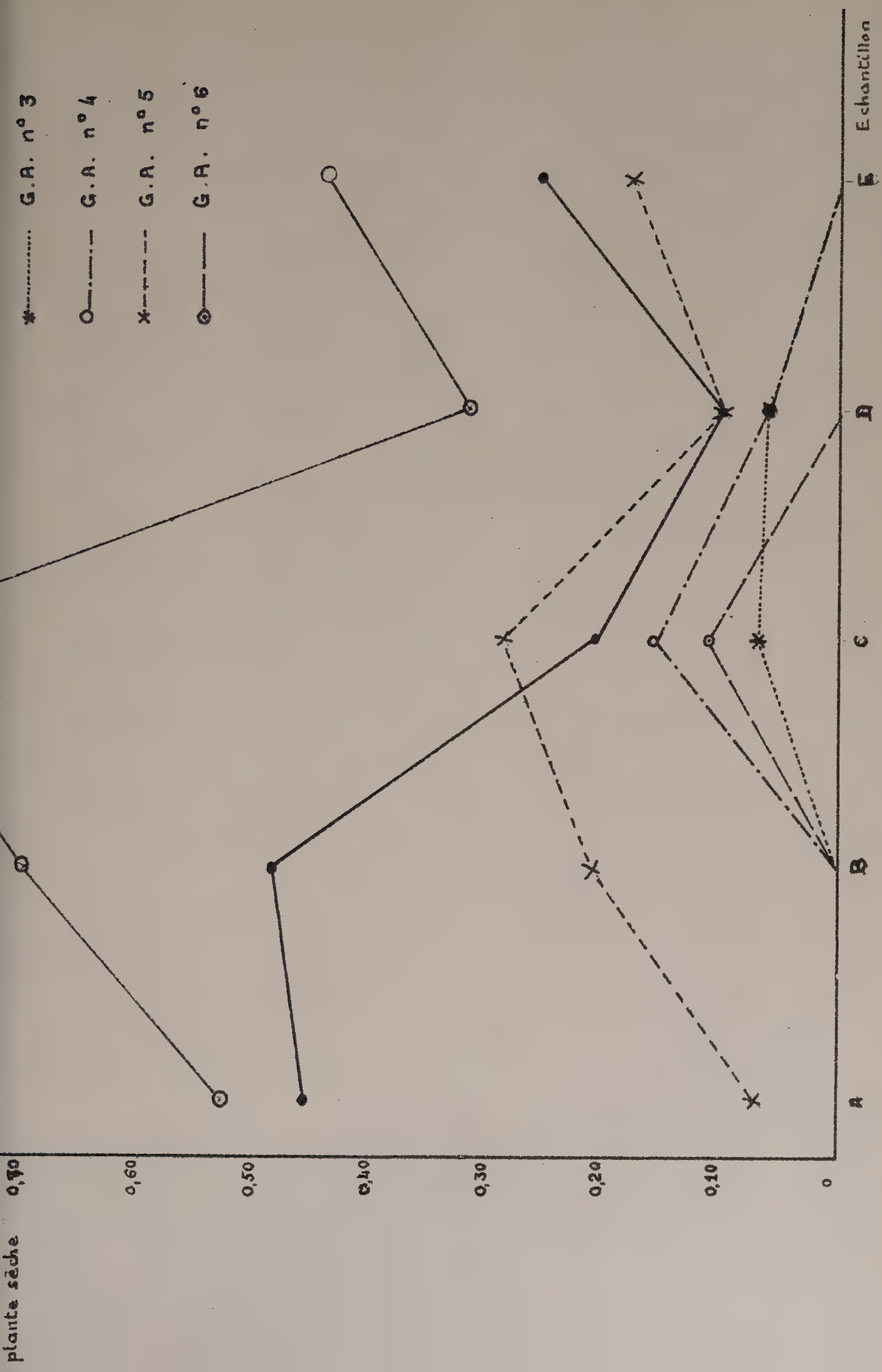
Echantillon

SOLANUM NIGRUM

(Feuilles)

○- - - - G-A n° 4
X- - - - G-A n° 5
●- - - - G-A n° 6





SOLANUM NIGRUM

(Feuilles)

CONCLUSION

Le but de notre travail était de mettre au point une méthode de titrage protométrique des alcaloïdes, susceptible d'être appliquée à leur micro-dosage dans les plantes aux différentes phases de la végétation.

Une telle méthode doit être sensible, précise et sélective ; ces conditions sont réalisées si le solvant est le plus inerte possible, si le réactif titrant est un acide fort et si l'indicateur coloré, de préférence acide, est situé à quelques unités pK au-dessus des alcaloïdes sur l'échelle unique d'acidité-basicité.

Les colorants dérivés de la phénolsulfonephtaléine, en solution dans des solvants peu dissociants inertes, semblaient, en théorie, répondre à ces exigences, si l'on utilisait leur fonction acide fort comme " réactif titrant " et leur fonction acide faible comme indicateur. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons fait une étude expérimentale des réactions entre ces colorants et les principaux alcaloïdes.

Cette étude effectuée en grande partie suivant une technique inspirée de la méthode des variations continues de JOB nous a conduit à plusieurs observations intéressantes :

- La longueur d'onde d'absorption maxima du " composé foncé ", formé entre le colorant et l'alcaloïde, varie avec la nature de celui-ci et le solvant employé ; une méthode dichotomique d'identification des principaux alcaloïdes, pourrait être basée sur cette propriété.

- La technique des variations continues, pratiquée avec un colorant et une base de références, permet de détecter dans un solvant la présence d'impuretés susceptibles de gêner le dosage protométrique et d'orienter vers une méthode de purification ; elle permet aussi, dans la plupart des cas, de localiser, avec une bonne approximation, les limitations imposées par ce solvant à l'échelle des pK.

- La formation d'un "composé jaune" entre la fonction acide fort du colorant et l'alcaloïde, peut être à la base d'un dosage colorimétrique de celui-ci, en milieu peu dissociant inerte. On peut apprécier des quantités de l'ordre du microgramme ; le dosage est donc sensible. Il est également précis, puisque l'erreur théorique est inférieure à 0,01 % pour la plupart des alcaloïdes ; en pratique la précision dépend surtout de la pureté du solvant. Mais la méthode manque de spécificité, et ne peut être utilisée qu'après purification des alcaloïdes ; elle convient par exemple pour doser de petites quantités d'alcaloïdes obtenues par élution de chromatogrammes.

- Enfin, après avoir établi expérimentalement une échelle unique de pK comportant les deux fonctions acides de quatre colorants et les fonctions basiques d'un certain nombre d'alcaloïdes, nous avons constaté qu'il est possible de doser volumétriquement un grand nombre d'alcaloïdes par le bleu de bromophénol, en milieu peu dissociant, avec une précision supérieure à 99 %, pour des concentrations comprises entre 10^{-4} M et 10^{-2} M.

Un examen des possibilités de dosages en milieu dissociant a complété cette étude.

La méthode de dosage volumétrique par le bleu de bromophénol a été appliquée à l'étude du bloc gluco-alcaloïdique de trois *Solanum* : *S. nigrum* L., *S. lycopersicum* Mill., *S. dulcamara* L. Après avoir mis au point une méthode quantitative d'extraction, nous avons effectué des dosages sur différents organes : feuilles, tiges, fruits. Cette méthode nous a donné toute satisfaction, en permettant le titrage de faibles quantités de gluco-alcaloïdes. Elle nous a permis de suivre leurs variations quantitatives au cours des différentes étapes de la végétation. Nous avons constaté, par

exemple, que les gluco-alcaloïdes, particulièrement abondants dans les fruits verts, disparaissent très rapidement au moment de la maturation.

La méthode colorimétrique de dosage des alcaloïdes, après séparation par chromatographie sur papier et élution des spots, n'est pas applicable aux gluco-alcaloïdes, insolubles dans les solvants inertes. Par contre ces composés forment avec le bleu de bromophénol un composé bleu, insoluble dans l'eau, qui peut être dosé colorimétriquement sur le chromatogramme lui-même. Nous avons eu recours à cette dernière méthode pour mettre en évidence les variations relatives, qui se sont révélées importantes, du taux des différents gluco-alcaloïdes des trois espèces de *Solanum* étudiées, aux phases essentielles de la végétation.

En résumé, un microdosage protométrique des alcaloïdes peut être réalisé avec les colorants dérivés de la phénolsulfonephtaléine, qui jouent à la fois les rôles d'indicateur et d'acide titrant. Parmi eux le bleu de bromophénol paraît le plus intéressant. Cette méthode est applicable au bloc gluco-alcaloïdique extrait des organes des trois *Solanum* étudiés, même s'il n'est pas parfaitement purifié.

Par l'union de l'alcaloïde avec la fonction acide fort du colorant, il est possible de doser colorimétriquement la plupart des alcaloïdes, mais non les gluco-alcaloïdes. Par contre un dosage colorimétrique de ces derniers, après séparation chromatographique, peut être basé sur la formation du composé insoluble dans l'eau qu'ils forment avec le bleu de bromophénol.

La combinaison de ces diverses méthodes est intéressante pour suivre les variations qualitatives et quantitatives des alcaloïdes et des gluco-alcaloïdes dans un organe végétal au cours de la végétation.

1000
1000
1000

1000
1000
1000

1000
1000
1000

B I B L I O G R A P H I E

PREMIERE PARTIE

- 1 - ACREE S.F. -
Am. Chem. J. 39, 528 (1908)
- 2 - BELL R.P. et BAYLES J.W. -
J. Chem. Soc. 1518 (1952)
- 3 - CHARLOT G. -
Les méthodes de la Chimie Analytique.
Masson ed. (1961)
- 4 - CHARLOT G. et TREMILLON B. -
Les réactions chimiques dans les solvants et les
sels fondus.
Gauthier-Villars ed. (1963)
- 5 - COUERBE J. -
Thèse Etat Pharm., Alger, (1956)
- 6 - CURRY A.S. -
Methods of Biochem. Anal. 7, 67, (1959)
- 7 - DARAWAY Z.I. et TOMPSETT S.L. -
Analyst, 81, 601, (1956)
- 8 - DAVIS M.M. et SCHUHMAN P.J. -
J. Res. Nat. Bur. Stand., 39, 221 (1947)
- 9 - DAVIS M.M., SCHUHMAN P.J. et LOVELACE M.E. -
J. Res. Nat. Bur. Stand., 41, 27, (1948)
- 10 - DAVIS M.M. et HETZER H.B. -
J. Res. Nat. Bur. Stand., 46, 496, (1951)
- 11 - DEMAY D. -
Thèse Etat Pharm., Paris, (1963)
- 12 - DENISON J.T. et RAMSEY J.B. -
J. Am. Chem. Soc., 77, 2615, (1955)
- 13 - DIETZEL R. et PAUL W. -
Arch. Pharm., 273, 507, (1935)

- 14 - DIETZEL R. et PAUL W. -
Arch. Pharm., 276, 408, (1938)
- 15 - GAUTIER J.A. et PELLERIN F. -
Ann. Pharm. Franç., 10, 401, (1952)
- 16 - GAUTIER J.A., RENAULT J. et PELLERIN F. -
Ann. Pharm. Franç., 13, 725, (1955)
- 17 - GAUTIER J.A., RENAULT J. et PELLERIN F. -
Ann. Pharm. Franç., 14, 337, (1956)
- 18 - GRACZA L. et LORINCZ C.S. -
Arch. Pharm., 296, 615, (1963)
- 19 - GULUBOV A. et KITOVA M. -
Sbornik Trudove, Visshiya Med. Inst. "J.P. PAVLOV",
11, 145, (1958)
(C.A., 53, 16467, (1959))
- 20 - GYENES I. -
Deutsche Akad. der Landwirt. zu Berlin, 27, 177, (1959)
- 21 - JOB P. -
Ann. Chim., 9, 113, (1928)
- 22 - KHAIT G.Y. -
Farmatsiya, 8, 26, (1945)
- 23 - KOLTHOFF J.M. -
Rec. Trav. Chim., 43, 144, (1924)
- 24 - KOLTHOFF J.M. -
Biochem. Z., 162, 289, (1925)
- 25 - KOLTHOFF J.M. et ELVING P.J. -
Treatise on analytical chemistry
Interscience Encyclopédie ed. (1959)
- 26 - LAMER V.K. et DOWNES H.C. -
Chem. Rev., 13, 47, (1933)
- 27 - LAPIDUS M., LUCAS M. et TREMILLON B. -
Bull. Soc. Chim., 1949 (1960)
- 28 - LUBBS H.A. et ACREE S.F. -
J. Am. Chem. Soc., 38, 2772, (1916)

- 29 - MARKHAM E.C., GLOVER C.A. et KNIGHT S.B. -
J. Elisha Mitchell Sci. Soc., 67, 261, (1951)
- 30 - POPOVYCH O. -
J. Phys. Chem., 66, 915, (1962)
- 31 - RAMART-LUCAS P. -
Bull. Soc. Chim., 8, 865, (1941)
- 32 - RAMART-LUCAS P. et MARTYNOFF M. -
Bull. Soc. Chim., 8, 882, (1941)
- 33 - RAMART-LUCAS P. -
Bull. Soc. Chim., 10, 279, (1943)
- 34 - RAUTIAINEN J. et WENNSTRÖM E. -
Farm. Aikakanslhti, 68, 204, (1959)
- 35 - RUMEAU M. et TREMILLON B. -
Bull. Soc. Chim., 1049, (1964)
- 36 - TACUSSEL J. -
Bull. Soc. Chim., 1155, (1964)
- 37 - TCHOUBAR B. -
Les mécanismes réactionnels en chimie organique.
Dunod ed., (1960)
- 38 - TCHOUBAR B. -
Bull. Soc. Chim., 2069, (1964)
- 39 - THOMIS G.N. et KOTIONIS A.Z. -
Anal. Chim. Acta, 14, 11, (1956)
- 40 - THOMIS G.N. et KOTIONIS A.Z. -
Anal. Chim. Acta, 14, 457, (1956)
- 41 - THOMIS G.N. et KOTIONIS A.Z. -
Anal. Chim. Acta, 16, 201, (1957)
- 42 - TRAUTNER E.M. et SHAW F.H. -
Australian Chem. Inst. J. and. Proc., 12, 232, (1945)
- 43 - TRAUTNER E.M. et SHAW F.H. -
Australian Chem. Inst. J. and. Proc., 12, 405, (1945)

- 44 - TRAUTNER E.M. et NEUFELD C.E. -
Australian Chem. Inst. J. and. Proc., 13, 70, (1946)
- 45 - TREMILLON B. -
Bull. Soc. Chim., 1940, (1960)
- 46 - VOGEL A.I. -
Practical Organic Chemistry
Longmans ed., (1954)
- 47 - VÖRLANDER D. -
Ber, 36, 1485, (1903)
- 48 - VÖRLANDER D., FISCHER J. et WILDNER F. -
Ber, 66 B, 1789, (1923)
- 49 - VÖRLANDER D. -
Ber, 67 B, 145 (1934)
- 50 - WEISSBERGER A. -
Technique of Organic Chemistry ; vol. VII ("Organic
solvents")
Interscience ed., (1955)
- 51 - WHITE E.C. et ACREE S.F. -
J. Am. Chem. Soc., 40, 1092 (1918)
- 52 - WHITE E.C. et ACREE S.F. -
J. Am. Chem. Soc., 41, 1190 (1919)

DEUXIEME PARTIE

- 53 - ABBOT D.C., FIELD K. et JOHNSON E.I. -
Analyst, 85, 375, (1960)
- 54 - AGERBERG I.S., SCHICK R., SCHMIDT M. et VON SENBUSCH.R. -
Der Züchter, 5, 272, (1933)
Rev. Applied. Mycol., 13, 405, (1933)
- 55 - ALBERTI B. -
Z. Unsters. Lebensm., 64, 260, (1932)
- 56 - ALBO G. -
Contribuzioni alla biol. veg. (Palerma), 2, 193, (1899)
- 57 - ALBO G. -
Bull. Soc. Ital., 161, (1902)
- 58 - ALCORTA M.E.R. -
Rev. Acultad : cienc. quim. (La Plata), 20, 139, (1945)
- 59 - ALFA J. et HEYL E. -
Z. Nahr. Genussm., 46, 306, (1923)
- 60 - ALKEMEYER M. et SANDER H. -
Naturwiss., 46, 207, (1959)
- 61 - ANDERSON B.R. -
Chem. News, 104, 2, (1911)
- 62 - ANDERSON A. et BRIGGS L.H. -
J. Chem. Soc., 1036, (1937)
- 63 - ANGELETTI A. -
Giorn. Farm. Chim., 76, 309, (1927)
- 64 - ARNOLD W. -
Pharmazie, 5, 490, (1950)
- 65 - ARUTYUNYAN L.A. -
Voprosy Pitaniya, 9, n° 5, 30, (1940)
(Chem. Zentr., 1, 1750, (1941)
- 66 - ASLANOV Kh.A., KASYMOV T.K. et SADYKOV A.S. -
Uzbeszk Khim Zh., 7, 35, (1963)

- 67 - BAERUG R. -
European Potato J., 5, 242, (1962)
- 68 - BAGGESGAARD-RASMUSSEN H. et BOLL P.M. -
Acta. Chem. Scand., 12, 802, (1958)
- 69 - BAKER L.C., LAMPIT L.H. et MEDERITH O.B. -
J.S. Food. Agric., 4, 197, (1955)
- 70 - BALANSART J. et DELPHAUT -
Ann. Pharm. Franç., 8, 725, (1950)
- 71 - BALCAR E., ZALECKA M. -
Biul. Inet. Roslin Lecznicznych, 8, 90, (1962)
- 72 - BARRAT E. -
Thèse Méd. Vét., n° 88, (1925), Paris
- 73 - BARTHE -
Toxicologie chimique, Paris, (1919)
- 74 - BASHMURIN -
Byull. Nauch. Tekh. Inform. Leningrad, 5, 35, (1958)
- 75 - BAUMANN H. -
Arch. Pharm., 34, 23, 158, (1843)
- 76 - BAUP M. -
Ann. Chim. Phys., 31, 108, (1826)
- 77 - BEHRE A. et EHRECKE H. -
Chem. Z., 42, 593, (1918)
- 78 - BELL R.C. et BRIGGS L.H. -
J. Chem. Soc., 1, (1942)
- 79 - BELL R.C., BRIGGS L.H. et CARROLL J.J. -
J. Chem. Soc., 12, (1942)
- 80 - BELLUT R. -
Arch. Méd. et Pharm. Mil., 63, 371, (1914)
- 81 - BERGEL F. et WAGNER R. -
Ber. Deuts. Chem. Ges., 66 B, 1093, (1933)
- 82 - BIANCHI E., ALBERTZ A. et CASTILLO R. -
Ann. Chim. (Rome), 43, 208, (1953)

- 83 - BIANCHI E. -
Gazz. Chim. Ital., 90, 894, (1960)
- 84 - BIANCHI E., DIAZ F. et CHARLIN M. -
Atti. Accad. Naz. Linc., 11, 465, (1960)
- 85 - BIGOTEAU -
Rev. Gén. Méd. Vét., (1904)
- 86 - BISSAUGE R. -
Thèse Paris, 1925
Bull. Soc. Hyg. Alim., 13, 403, (1925)
- 87 - BITE P. et TUSZON P. -
Acta. Chim. Acad. Sci. Hung., 17, 241, (1958)
- 88 - BITE P., JOKAY L. et PONGRACZ-STERK P. -
Acta. Chim. Acad. Sci. Hung., 34, 363, (1962)
- 89 - BLOOM H. et BRIGGS L.H. -
J. Chem. Soc., 3591, (1952)
- 90 - BOGNAR R. et MAKLEIT S. -
Pharmazie, 11, 376, (1956)
- 91 - BOGNAR R. et MAKLEIT S. -
Vortr. Symp. Über Chemie der Naturstoffe und pharmakologisch wirksamen organischen Verbindungen. Budapest, 21 Nov. 1959
- 92 - BOHME H. -
Die Kartoffel, 8, 191, (1928)
- 93 - BOLL P.M. -
Acta. Chem. Scand., 12, 358, (1958)
- 94 - BOLL P.M. -
Farm. Tidende, 38, 597, (1959)
- 95 - BOLL P.M. -
Acta. Chem. Scand., 14, 783, (1960)
- 96 - BOLL P.M. -
Acta. Chem. Scand., 16, 1819, (1962)
- 97 - BOLL P.M. et ANDERSEN B. -
Planta med., 10, 421, (1962)

- 98 - BOLL P.M. et SJOBERG B. -
Acta. Chem. Scand., 17, 1176, (1963)
- 99 - BOMER A. et MATTIS H. -
Z. Unters. Nahr. Genussm., 45, 288, (1923)
- 100 - BOMER A. et MATTIS H. -
Z. Unters. Nahr. Genussm., 47, 97, (1924)
- 101 - BORKOWSKI B. -
Biuletyn Inst. Ros. Lecz. Czycz., 7, 14, (1961)
- 102 - BOSC A. -
Thèse Montpellier Pharm., (1876)
- 103 - BOTTCHE I. et ROCHELMAYER H. -
Arch. Pharm., 285, 1, (1952)
- 104 - BRAGINA L.M. et PERVACHEVA T.D. -
Med. Prom. SSSR., 16, 36, (1962)
- 105 - BRAUN H. -
Beitr. Agrarwiss, 2, 61, (1948)
- 106 - BRIEG -
Suddent Apoth. Z., 80, 501, (1940)
- 107 - BRIGGS L.H. -
J. Am. Chem. Soc., 59, 1404, (1937)
- 108 - BRIGGS L.H. -
J. Am. Chem. Soc. 59, 2467, (1937)
- 109 - BRIGGS L.H. -
Nature, 144, 247, (1939)
- 110 - BRIGGS L.H., NEWBOLD R.P. et STACE N.E. -
J. Chem. Soc., 3, (1942)
- 111 - BRIGGS L.H., HARVEY W.E., LOCKER R.H., Mc GILLIVRAY W.A.
et SEELYE R.N. -
J. Chem. Soc., 3013, (1950)
- 112 - BRIGGS L.H. et O'SHEA T.O. -
J. Chem. Soc., 1654, (1952)
- 113 - BRIGGS L.H., BROOKER E.G., HARVEY W.E. et ODELL A.L. -
J. Chem. Soc., 3587, (1952)

- 114 - BRIGGS L.H. et VINING -
J. Chem. Soc., 2809, (1953)
- 115 - BRIGGS L.H. et BROOKER E.G. -
J. Biol. Chem., 2833, (1953)
- 116 - BRIGGS L.H. et BROOKER E.G. -
J. Biol. Chem., 1419, (1958)
- 117 - BRIGGS L.H. et CAMBIE R.C. -
J. Biol. Chem., 1422, (1958)
- 118 - BRIGGS L.H. et COLEBROOK L.D. -
J. Chem. Soc., 3417, (1960)
- 119 - BRIGGS L.H., CAMBIE R.C. et HOARE J.L. -
J. Chem. Soc., 4645, (1961)
- 120 - BRIGGS L.H., CAMBIE R.C. et HOARE J.L. -
J. Chem. Soc., 2848, (1963)
- 121 - BRINK et FOLKERS -
J. Am. Chem. Soc., 73, 4018, (1951)
- 122 - BRUNEL A. -
Chimie Végétale
Georges ed. (1948)
- 123 - BUSTINZA F. -
Farm. Nueva., 12, 15, (1947)
- 124 - CAMERINO B., ALBERTI C.G. et VERCELLONE A. -
Gazz. Chim. Ital., 83, 795, (1953)
- 125 - CAPPELLI G. -
Ann. Chim. Appl., 14, 261, (1924)
- 126 - CAZENEUVE P. et BRETEAU P. -
Bull. Soc. Chim., 21, 428, (1899)
- 127 - CAZENEUVE P. et BRETEAU P. -
J. Pharm. et Chim., 9, 462, (1899)
- 128 - CAZENEUVE P. et BRETEAU P. -
Compt. rend., 128, 887, (1899)
- 129 - CERCOS A.P. et BURACHIK M. -
Rev. Invest. Agr., 9, 369, (1955)

- 130 - CHOPRA R.N. et GHOSH S. -
Indian Med. Record., 55, 77, (1935)
- 131 - CLARKE E.G.C. -
Nature, 181, 1152, (1958)
- 132 - CLEMO G.R., MORGAN W. et RAPER R. -
J. Chem. Soc., 2, 1299, (1936)
- 133 - COLOMBANO A. -
Gazz. Chim. Ital., 38, 19, (1908)
- 134 - COLOMBANO A. -
Atti. Acad. Lincei., 16, 755, (1908)
- 135 - COLOMBANO A. -
Gazz. Chim. Ital., 42, 101, (1912)
- 136 - CONNER H.W. -
Plant. Physiol., 12, 79, (1937)
- 137 - CRAIG L.C. et JACOBS W.A. -
Sci., 97, 122, (1943)
- 138 - CRAIG L.C. et JACOBS W.A. -
J. Biol. Chem., 149, 451, (1943)
- 139 - CURRY A.S. et PHANG S.E. -
J. Pharm. Pharmacol., 12, 437, (1960)
- 140 - DABBS D.H. et HILTON H.I. -
Canadian J. Tech., 31, 214, (1953)
- 141 - DAVIS F. -
Pharm. J., 15, 160, (1902)
- 142 - DEJUSSIÉU -
Bull. Pharm. Sud-Est, 24, 357, (1919)
- 143 - DESFOSSÉS M. -
Journal de Pharmacie, 6, 374, (1820)
Bull. Soc. Méd. Emulation, 7, (1821)
- 144 - DESFOSSÉS M. -
J. de Pharmacie, 7, 414, (1821)
- 145 - DIETERLE H. et SCHAFFNIT K. -
Arch. Pharm., 270, 550, (1932)

- 146 - DIETERLE H. et ROCHELMAYER H. -
Arch. Pharm., 273, 532, (1935)
- 147 - DIJKSTRA N.D. et REESTMAN A.J. -
Landbouwkund. Tijdschr., 55, 191, (1943)
- 148 - DOOLITTLE S.P. et FONTAINE T.D. -
Ind. Eng. Chem., 26, 2440, (1948)
- 149 - DOROSH T.P. et TUKALO E.A. -
Farm. Zhur., 16, 44, (1961)
- 150 - DROSTE -
Pharm. Zent., 56, 311, (1915)
- 151 - DUCET G. et SEMERE S. -
Ann. Agr., Annexe II, 141, (1957)
- 152 - FAUCHER A. et MONNET R. -
Bull. Soc. Pharm. Ouest, 4, 107, (1961)
- 153 - FELLEBERG Th. Von -
Mitt. Lebensm. Hyg., 31, 85, (1940)
- 154 - FERNHOLZ H. -
In "Über sterine, Gallensauren und verwandte Naturstoffe". (LETTRE et TSCHESCHE ed.). Vol. 1, 247,
Enka Stuttgart, (1954)
- 155 - FIESER L.F. et FIESER M. -
Steroids. Reinhold. Publ. Corp. ed. N.Y. (1959)
- 156 - FIRBAS R. -
Monatsh. f. Chem., 10, 541, (1899)
- 157 - FISCHER R. -
Biochem. Z., 209, 319, (1929)
- 158 - FISCHER R. et THIELE J. -
Chem. Zent., 3164, (1930)
- 159 - FISCHER R. et THIELE J. -
Osterr. Bot. Zeit., 78, 325, (1939)
- 160 - FONTAINE T.D., MA R. et POOLE J.B. -
Arch. Biochem., 15, 89, (1947)
- 161 - FONTAINE T.D. et MA R. -
Arch. Biochem., 16, 399, (1948)

- 162 - FONTAINE T.D., IRVING G.W., MA R.M., POOLE J.B. et DOOLITTLE S. -
Arch. Biochem., 18, 467, (1948)
- 163 - FONTAINE T.D., ARD J.S. et MA R.M. -
J. Am. Chem. Soc., 73, 878, (1951)
- 164 - FONTAINE T.D. et SCHAFFER P. -
U.S. Dept. Agr. agr. Research Service ARS, 73, (1955)
- 165 - FOSSE L. -
Doct. Méd. Montpellier, (1887)
- 166 - FREIRE D. -
Compt. Rend., 105, 1074, (1887)
- 167 - FUSCO D. -
Boll. Chim. farm., 80, 99, (1941)
- 168 - GALINOVSKY F. et WAGNER A. -
Nonatsch, 82, 1123, (1951)
- 169 - GERASIMENKO L.I., KIBALCHICH P.N., LABENSKJI A.S. et BALASHOVA E.G. -
Med. Prom. SSSR, 12, 11, (1958)
- 170 - GERASIMENKO L.I. et LABENSKII A.S. -
Med. Prom. SSSR, 15, 12, (1961)
- 171 - GMELIN O. -
Liebigs Ann. Chem., 110, 167, (1859)
- 172 - GORIS A. -
Thèse pour Agrégation (1914)
- 173 - GORTNER R.A. -
Outlines of biochemistry ; Wiley ed. N.Y., 466, (1929)
- 174 - GRACZA L. et SZASZ K. -
Arch. Pharm., 195, 859, (1962)
- 175 - GRACZA L. et LORINCZ CS. -
Arch. Pharm., 196, 615, (1963)
- 176 - GRESHUSHNIKOV A.J. -
Fisiol. Rasteni., 2, 476, (1955)
- 177 - GRESHOFF M. -
Ber., 23, 3541, (1890)

- 178 - GRESHOFF M. -
Ber. Deut. Pharm. Ges., 9, 214, (1899)
- 179 - GRIEBEL C. -
Unters. Nahr. Genussm., 45, 175, (1923)
- 180 - GRIEBEL C. -
Unters. Nahr. Genussm., 47, 436, (1924)
- 181 - GULL D.D. et ISENBERG F.M. -
Proc. Am. Soc. Hor. Sci., 75, 545, (1960)
- 182 - GUPTA M.P. et DUTT S. -
J. Ind. Chem. Soc., 15, 95, (1938)
- 183 - GUSEVA A.R. et PASESHNICHENKO V.A. -
Biokhimiya, 22, 843, (1957)
- 184 - GUSEVA A.R. et PASESHNICHENKO V.A. -
Biokhimiya, 24, 563, (1959)
- 185 - GUSEVA A.R., BORIKHINA M.G. et PASESHNICHENKO V.A. -
Biokhimiya, 25, 282, (1960)
- 186 - GUSEVA A.R. et PASESHNICHENKO V.A. -
Biokhimiya, 26, 723, (1961)
- 187 - GUSEVA A.R. et PASESHNICHENKO V.A. -
Compt. Rend. 5ème Cong. Intern. Biochim., Moscou, 7,
287, (1961)
- 188 - GUSEVA A.R. et PASESHNICHENKO V.A. -
Biokhimiya, 27, 853, (1962)
- 189 - GYENES I. -
Mag. Kem. Fol., 59, 159, (1953)
- 190 - GYENES I. -
Mag. Kem. Fol., 59, 353, (1953)
- 191 - HANSEN J. -
Z. Exp. Path. Therap., 20, 385, (1919)
- 192 - HARRIS F.W. et COCKBURN T. -
Analyst., 43, 133, (1918)
- 193 - HAUF C. -
Jahresb. Chem., 817, (1866)

- 194 - HAYNES L.J. et SEAFORTH C.F. -
J. Chem. Soc., 745, (1963)
- 195 - HEIDUSCHKA A. et SIEGER H. -
Arch. Pharm., 225, 18, (1917)
- 196 - HEIDUSCHKA A. et PHILIPPI H. -
Ber., 68, 669, (1935)
- 197 - HEIZ R. et KARRER P. -
Helv. Chim. Acta., 36, 1788, (1953)
- 198 - HENRY -
The Plant Alkaloids 3rd ed., Blakiston, ed. Philadelphia, (1939)
- 199 - HILTON R.J. -
Sci. Agr., 31, 61, (1951)
- 200 - HILTON R.J. et GAMBORG O.L. -
Can J. Plant. Sci., 37, 407, (1957)
- 201 - HUGOUNENQ L. -
Traité des poisons, Masson ed., (1891)
- 202 - HUTCHINSON A. et HILTON R.J. -
Can. J. Agr. Sci., 35, 485, (1955)
- 203 - Int. Symp. Chem. und. Biochem. des Solanum Alkaloids,
(1959), (Berlin)
- 204 - JORISSEN A. et GROSJEAN L. -
Acad. Roy. Sci. Belg. Bull., 19, 245, (1890)
- 205 - KABARA J.J., LAUGHLIN J.T. et RIEGEL C.A. -
Anal. Chem., 33, 305, (1961).
- 206 - KALMAN S. -
Acta. Pharm. Hung., 31, 211, (1961)
- 207 - KAMERAZ A.Y. et EVGRAFOVA N.P. -
Zemledenie, 2, 92, (1954)
- 208 - KAMINSKY L. -
Acta. Chim. Acad. Sci. Hung, 33, 407, (1962)
- 209 - KASSNER G. -
Arch. Pharm., 23, 241, (1885)

- 210 - KENNEDY G.W. -
Amer. J. Pharm., 45, 8, (1873)
- 211 - KERN -
Phytopathol. Z., 19, 351, (1952)
- 212 - KOBLYANSKII A.G. -
J. Applied. Chem. URSS, 2, 1721, (1936)
- 213 - KOLANKIEWICZ J., MLODECKI H. et SZYMCZYK F. -
Roczniki Panstwowego Zakladu Hig., 5, 214, (1954)
- 214 - KOLANKIEWICZ J., MLODECKI H. et SZYMCZYK F. -
Roczniki Panstwowego Zakladu Hig., 7, 537, (1956)
- 215 - KOLTHOFF J.M. -
Biochem. Z., 162, 289, (1925)
- 216 - KOSOVA V. et HAJKOVA J. -
Planta Med., 2, 216, (1961)
- 217 - KRAUSS J. -
Am. J. Pharm., 601, (1890)
- 218 - KRAUSS J. -
Am. J. Pharm., 65, 211, (1891)
- 219 - KRISHNAMURTI G.V. et SESHADRI T.R. -
J. Sci. Ind. Res., 8 B, 97, (1949)
- 220 - KUHN R. et LOW I. -
Ber., 80, 406, (1947)
- 221 - KUHN R. et LOW I. -
Ber., 81, 552, (1948)
- 222 - KUHN R., LOW I. et GAUHE A. -
Ber., 83, 448, (1950)
- 223 - KUHN R., LOW I. et TRISCHMANN M. -
Angew. Chem., 64, 397, (1952)
- 224 - KUHN R., LOW I. et TRISCHMANN M. -
Ber., 85, 416, (1952)
- 225 - KUHN R., LOW I. et TRISCHMANN M. -
Ber., 86, 372, (1953)
- 226 - KUHN R. et LOW I. -
Ber., 86, 1027, (1953)

- 227 - KUHN R. et LOW I. -
Ger., 913 893, (1954)
Ger., 911 260, (1954)
- 228 - KUHN R. et LOW I. -
Angew. Chem., 66, 639, (1954)
- 229 - KUHN R., LOW I. et TRISCHMANN M. -
Ber., 88, 289, (1955)
- 230 - KUHN R. et LOW I. -
Ann. Acad. Sci. Fennicae, 60, 488, (1955)
- 231 - KUHN R., LOW I. et TRISCHMANN M. -
Angew. Chem. 67, 32, (1955)
- 232 - KUHN R., LOW I. et TRISCHMANN M. -
Ber., 88, 1492, (1955)
- 233 - KUHN R., LOW I. et TRISCHMANN M. -
Ber., 88, 1690, (1955)
- 234 - KUHN R. et LOW I. -
Brevet U.S., 2770, 618, 13 Nov., (1956)
- 235 - KUHN R., LOW I. et TRISCHMANN M. -
Angew. Chem., 68, 212, (1956)
- 236 - KUHN R., LOW I. et TRISCHMANN M. -
Ber., 90, 202, (1957)
- 237 - KUHN R. et LOW I. -
Angew. Chem., 69, 236, (1957)
- 238 - KUHN R. et LOW I. -
Ber., 94, 1088, (1961)
- 239 - KUHN R. et LOW I. -
Ber., 95, 1748, (1962)
- 240 - LABENSKIJ A.S., GERASIMENKO J.J. et UTKIN L.M. -
Zhur. Obsheei. Khim., 28, 3120, (1958)
- 241 - LABENSKIJ A.S. -
Zhur. Obsheei. Khim., 30, 335, (1960)
- 242 - LABENSKIJ A.S. et KORETSKAYA N.J. -
Med. Prom. SSSR, 15, 41, (1961)

- 243 - LABENSKIJ A.S. -
URSS, 144 852, (1962)
- 244 - LABENSKIJ A.S. et ZEIFMAN V.I. -
URSS, 144 853, (1962)
- 245 - LABLER L., CERNY V. et SORM F. -
Czech., 92 841, 15 Nov. 1959
- 246 - LAMPITT L.H., BUSHILL I.H., ROOKE H.S. et JACKSON E.M. -
J. Soc. Chem. Ind., 62, 48, (1943)
- 247 - LAPICQUE L. et LEGENDRE R. -
J. Physiol. Pathol. Gén., 20, 163, (1922)
- 248 - LEBEAU P. et JANOT M.M. -
Traité de Pharmacie Chimique, Masson ed., 1955-56
- 249 - LEDERER E. -
Chromatographie en Chimie organique et biologique,
Masson ed. (1959)
- 250 - LEPPER W. -
Vorratspflege u. Lebensmittelforsch., 1, 599, (1939)
(Chem. Z., 1, 2327, (1939))
- 251 - LEPPER W. -
Lebensm. Untersuch. u. Forsch., 86, 247, (1943)
- 252 - LEPPER W. -
Lebensm. Untersuch. u. Forsch., 89, 264, (1949)
- 253 - LEVI A.A. -
J. Soc. Chem. Ind., 49, 395, (1930)
- 254 - LILJEMARK A. et WIDOFF E. -
Am. Potato J., 37, 379, (1960)
- 255 - LLOYD J.U. -
Am. J. Pharm., 161, (1894)
- 256 - LORINCZ CS -
Magyar. Kem. Folyoirat., 67, 414, (1961)
- 257 - LOWE H. -
Analyst., 54, 153, (1929)
- 258 - MA R.M. et FONTAINE T.D. -
Arch. Biochem., 27, 461, (1950)

- 259 - Mc KEE R.K. -
Nature, 179, 313, (1957)
- 260 - MAGUINA V.L. -
Ann. fac. farm. y bioquim univ. nacl. mayor San Ma-
rios, 2, 121, (1951)
- 261 - MAGYAR G., LENARD K. et TUSZON P. -
Acta. Chim. Acad. Sci. Hung., 17, 241, (1958)
- 262 - MAGYAR G. et TUSZON P. -
Aust. 218 182 (1958)
- 263 - MAGYAR G. -
Acta Chim. Acad. Sci. Hung., 20, 331 , (1959)
- 264 - MAGYAR G. et TUSZON P. -
Hung., 147 588, (1960)
- 265 - MAGYAR G. -
Tudom. Osztal. Kozl., 15, 51, (1961)
- 266 - MAGYAR G. -
Hung., 148 403, (1961)
- 267 - MAGYAR G. et TUSZON P. -
Ger. 1 119 265, (1961)
- 268 - MAKLEIT S., GAAL G.D. et BOGNAR R. -
Acta Chim. Acad. Sci. Hung, 33, 407, (1962)
- 269 - MANJUNATH B.L. et SHADAK SHARASWAMY M. -
J. Mysore Univ., Sect. B, 3, 117, (1942)
- 270 - MASSON G. -
Bull. Sci. Pharmacol., 283, (1912)
- 271 - MATAS L.C. et ADAN-LIGORIT M.S. -
Farmacognosia (Madrid), 16, 187, (1956)
- 272 - MEYER G. -
Arch. Exp. Path. und Pharm., 361, (1895)
- 273 - MINASYAN S.M. -
Biokhimiya, 12, 298, (1947)
- 274 - MISSAGHI G. -
Gazz. Chim. Ital., 5, 416, (1875)

- 275 - MOITESSIER A. -
Thèse Pharm. Montpellier, (1856)
- 276 - MONNET R., SABON F., VIALA A. -
Ann. Fals. et Fraudes, 563, 485, (1955)
- 277 - MORGENSTERN F. -
Landw. Vers-Sta., 65, 301, (1907)
- 278 - MORIN -
J. Chim. Med., 1, 90, (1825)
- 279 - MOSETTIG E., SATO Y. et KATZ A. -
U.S., 2 684 365, (1954)
- 280 - NAUMOV - Voprosy Pitaniya (URSS), 7, 208, (1938)
- 281 - ODDO G. -
Ber. Deut. Chem. Ges., 35_I, 27, (1905)
- 282 - ODDO G. -
Gazz. Chim. Ital., 36_I, 310 (1906)
- 283 - ODDO G. et CESARIS CS. -
Gazz. Chim. Ital., 41_I, 490, (1911)
- 284 - ODDO G. -
Gazz. Chim. Ital., 41_I, 534, (1911)
- 285 - ODDO G. et CESARIS CS. -
Gazz. Chim. Ital., 44_I, 680, (1914)
- 286 - ODDO G. et CESARIS CS. -
Gazz. Chim. Ital., 44_{II}, 181, (1914)
- 287 - ODDO G. et CARONNA G. -
Ber., 62_B, 267, (1929)
- 288 - ODDO G. -
Gazz. Chim. Ital., 59, 155. (1929)
- 289 - ODDO G. et CARONNA G. -
Gazz. Chim. Ital., 62, 1108. (1933)
- 290 - ODDO G. et CARONNA G. -
Gazz. Chim. Ital., 64, 175. (1934)

- 291 - ODDO G. et CARONNA G. -
Ber., 67 B, 446, (1934)
- 292 - ODDO G. et CARONNA G. -
Ber., 69 B, 283, (1936)
- 293 - OTTO T. -
J. Prakt. Chem., 1, (1834)
- 294 - PAECH K. et TRACEY M.V. -
Moderne Méthoden der Pflanzen analyse, IV, 477,
Springer-Verlag ed., (1956)
- 295 - PALLMAN H. et SCHINDLER K. -
Schweiz. Landw. Monatsh., 1, 21, (1942)
- 296 - PASESHNICHENKO V.A. et GUSEVA A.R. -
Biokhimiya, 21, 585, (1956)
- 297 - PASESHNICHENKO V.A. -
Biokhimiya, 22, 981, (1957)
- 298 - PATT P. et WINKLER W. -
Arch. Pharm., 293, 846, (1960)
- 299 - PAYEN et CHEVALIER -
J. Chim. Med., 1, 517, (1825)
- 300 - PELLETIER S.W. et JACOBS W.A. -
J. Am. Chem. Soc., 74, 4218, (1952)
- 301 - PELLETIER S.W. et LOCKE D.M. -
J. Am. Chem. Soc., 79, 4531, (1957)
- 302 - PETROCHENKO E.I. -
Doklady Akad. Nauk SSSR, 90, 1091, (1953)
- 303 - PETROCHENKO E.I. -
Doklady Akad. Nauk SSSR, 90, 841, (1953)
- 304 - PETROCHENKO E.I. -
Abhandl. deut. Akad. Wiss. Berlin, Kl. Chem. Geol.
u. Biol., 7, 158, (1956)
- 305 - PFANKUCH E. -
Biochem. Z., 295, 44, (1937)
- 306 - PIERZCHALSKI T. et WERNER E. -
Hodowla Roslin Aklimat i Nas., 2, 157, (1958)

- 307 - PILAR F.M.R.C. -
An. Farm. Bioquim. Guenos Ayres, 8, 23, (1937)
- 308 - PINAR M. -
An. real soc. espan. fis. y quim., 52 B, 513, (1956)
- 309 - POLACCI G. et GALOTTI M. -
Bull. Soc. Ital. Biol. Sper., 15, 328, (1940)
(Chimie et Industrie, 44, 528, (1940))
- 310 - POPP H.W. -
Amer. J. Bot., 13, 706, (1926)
- 311 - PRELOG V. et SZPILFOGEL S. -
Helv. Chim. Acta., 25, 1036, (1942)
- 312 - PRELOG V. et SZPILFOGEL S. -
Helv. Chim. Acta., 27, 390, (1944)
- 313 - PRELOG V. et JEGER O. in MANSKE -
The Alkaloids, Chemistry and Physiology T. III, 247,
(1953) ; T. VII, 343, (1963)
- 314 - PROKOSHEV S.M., PETROCHENKO E.I. et BARANOVA V.Z. -
Doklady Akad. Nauk SSSR, 74, 339, (1950)
- 315 - PROKOSHEV S.M. et PETROCHENKO E.I. -
Doklady Akad. Nauk SSSR, 74, 541, (1950)
- 316 - PROKOSHEV S.M., PETROCHENKO E.I. et BARANOVA V.Z. -
Biokhimiya, 17, 362, (1952)
- 317 - PROKOSHEV S.M., PETROCHENKO E.I. et BARANOVA V.Z. -
Doklady Akad. Nauk SSSR, 82, 955
83, 261 ; 457 ; 881 ; (1952)
- 318 - PROKOSHEV S.M., PETROCHENKO E.I. et PASESHNICHENKO V.A. -
Doklady Akad. Nauk SSSR, 106, 313, (1956)
- 319 - REICHSTEIN Th. et REICH -
Ann. Rev. of Biochem., 180, (1946)
- 320 - REULING -
Ann. Chem. Pharm., 30, 253, (1833)
- 321 - RINEHART R.K., DELANEY S.E. et SHEPPARD H. -
J. Lipid. Res., 3, 383, (1962)

- 322 - ROCHELMEYER H. -
Arch. Pharm., 274, 543, (1936)
- 323 - ROCHELMEYER H. -
Arch. Pharm., 275, 336, (1937)
- 324 - ROCHELMEYER H., GEYER E., SHAM C.S. -
Ber. Deut. Chem. Ges., 71 b, 226, (1938)
- 325 - ROCHELMEYER H. -
Arch. Pharm., 277, 329, (1939)
- 326 - ROCHELMEYER H. -
Helv. Chim. Acta., 25, 1306, (1942)
- 327 - ROCHELMEYER H. -
Arch. Pharm., 280, 453, (1942)
- 328 - ROCHELMEYER H. -
Gemeinschaft sverpfleg. Volksernähr., Kochmiss, 11,
suppl., 69, (1944)
(Chem. Zent., 1188, (1944 II))
- 329 - ROOKE H.S., BUSHILL J.H., LAMPITT L.H. et JACKSON E.M. -
J. Soc. Chem. Ind., 62, 20, (1943)
- 330 - ROTHEN A. et CRAIG L.C. -
J. Am. Chem. Soc., 65, 1102, (1943)
- 331 - SABALITSCHKA Th. et JUNGERMANN G. -
Pharm. Ztg., 70, 272, (1925)
- 332 - SABER A.H., BALBAA S.I. et ZAKY A.Y. -
Bull. Fac. Pharm. (Le Caire), 2, 51, (1963)
- 333 - SAIYED I.Z. et KANGA D.D. -
Proc. Indian. Acad. Sci., Sect. A, 4, 255, (1936)
- 334 - SANDER H. -
Arch. Pharm., 289, 308, (1956)
- 335 - SANDER H. -
Planta, 47, 374, (1956)
- 336 - SANDER H. et GRISEBACH H. -
Z. Naturforsch., 13 B, 755, (1958)
- 337 - SANDER H., ALKEMEYER M. et HANSEL R. -
Pharm. Acta. Helv., 35, 30, (1960)

- 338 - SANDER H. -
Z. Naturforsch., 16 B, 144, (1961)
- 339 - SANDER H. et WILLUHN G. -
Flora, 151, 150, (1961)
- 340 - SANDER H., HAUSER H. et HANSEL R. -
Planta Med., 9, 8, (1961)
- 341 - SANDER H., ALKEMEYER M., HANSEL R. -
Arch. Pharm., 295, 6, (1962)
- 342 - SANDER H. -
Planta Med., 11, 23, (1963)
- 343 - SATO Y. et JACOBS W.A. -
J. Biol. Chem., 179, 623, (1949)
- 344 - SATO Y., KATZ A. et MOSETTIG E. -
J. Am. Chem. Soc., 73, 880, (1951)
- 345 - SATO Y., MILLER H.K. et MOSETTIG E. -
J. Am. Chem. Soc., 73, 5009, (1951)
- 346 - SATO Y., KATZ A. et MOSETTIG E. -
J. Am. Chem. Soc., 74, 538, (1952)
- 347 - SATO Y. et LATHAM H.G. -
J. Am. Chem. Soc., 75, 6067, (1953)
- 348 - SATO Y. et LATHAM H.G. -
Chem. et Ind., 444, (1955)
- 349 - SATO Y. et LATHAM H.G. -
J. Am. Chem. Soc., 78, 2150, 3146, 3150, (1956)
- 350 - SATO Y. et LATHAM H.G. -
J. Org. Chem., 22, 981, (1957)
- 351 - SATO Y., LATHAM H.G. et MOSETTIG E. -
J. Org. Chem., 22, 1496, (1957)
- 352 - SATO Y., LATHAM H.G., BRIGGS L.H. et SEELYE R.N. -
J. Am. Chem. Soc., 79, 6089, (1957)
- 353 - SATO Y., IKEKAWA N. et MOSETTIG E. -
J. Org. Chem., 24, 893, (1959)
- 354 - SATO Y., IKEKAWA N. et MOSETTIG E. -
J. Org. Chem., 25, 783, (1960)

- 355 - SATO Y., LATHAM H.G. et IKEKAWA N. -
J. Org. Chem., 25, 1962, (1960)
- 356 - SATO Y. et JACOBS W.A. -
J. Biol. Chem., 191, 63, (1961)
- 357 - SATO Y. et IKEKAWA N. -
J. Org. Chem., 26, 1945, (1961)
- 358 - SATO Y. et IKEKAWA N. -
J. Org. Chem., 26, 5058, (1961)
- 359 - SATO Y. et HAYAKAWA S. -
J. Org. Chem., 26, 4181, (1961)
- 360 - SCHEER J., KOSTIC R.B. et MOSETTIG E. -
J. Am. Chem. Soc., 75, 4871, (1953)
77, 641, (1955)
- 361 - SCHINDLER W. -
Brevet J.R. Geigy Akt. Ges. Suisse, 328 077, (1958)
- 362 - SCHOPF C. et HERMANN R. -
Ber Deutsch. Chem. Ges., 66 B, 298, (1933)
- 363 - SCHOWALTER E. et HARTMANN W. -
Z. Unters. Nahr. Genussm., 47, 251, (1924)
- 364 - SCHREIBER K. -
Chem. Ber., 87, 1007, (1954)
- 365 - SCHREIBER K. -
Chem. Tech., 6, 312, (1954)
- 366 - SCHREIBER K. -
Chem. Tech., 6, 648, (1954)
- 367 - SCHREIBER K. -
Chem. Tech., 7, 271, (1955)
- 368 - SCHREIBER K. -
Angew. Chem., 67, 127, (1955)
- 369 - SCHREIBER K. -
Abh. Deutsch. Akad. Wiss. Berlin, Kl. Chem. Geol. und
Biol., 143, (1957)
- 370 - SCHREIBER K. -
Der Züchter, 27, 289, (1957)

- 371 - SCHREIBER K. -
Angew. Chem., 69, 483, (1957)
- 372 - SCHREIBER K. -
Ent. Exp. and Appl., 1, 28, (1958)
- 373 - SCHREIBER K. -
Compt. Rend., XVIè Cong. Intern. Chim. pure et appl.,
Paris, 125, (1958)
- 374 - SCHREIBER K. -
Planta Med., 6, 94, (1958)
- 375 - SCHREIBER K. -
Planta Med., 6, 435, (1958)
- 376 - SCHREIBER K. et RONSCH Q. -
Arbeitstagung Biochem. und Physiol. Alkaloide, Halle,
Mai 1960
- 377 - SCHREIBER K. et ADAM G. -
Tetrahedron letters, 27, 5, (1960)
- 378 - SCHREIBER K. -
Ger (East) 18 125, (1960)
- 379 - SCHREIBER K. et ADAM G. -
Experienta, 17, 13, (1961)
- 380 - SCHREIBER K. et ADAM G. -
Experienta, 17, 490, (1961)
- 381 - SCHREIBER K. et OSSKE G. -
Experienta, 19, 69, (1963)
- 382 - SCHREIBER K. et ROENSCH H. -
Tetrahedron letters, 329, (1963)
- 383 - SCHREIBER K. -
Kulturpflanze, 11, 422, (1963)
- 384 - SCHULZ G. -
Zeit. Zuckering Böhm, 25, 89, (1900)
- 385 - SCHULZ G. et SANDER H. -
Z. Physiol., 308, 122, (1957)
- 386 - SERAK J. et KUTACEK M. -
Ceskoslov farm., 7, 322, (1958)

- 387 - SIEWINSKI A., MEJER S. et KOCOR M. -
Przemysl Chem., 13, 543, (1957)
- 388 - SIMEK J. -
Prumysl. Potravin., 13, 380, (1962)
- 389 - SIROTINA O.N. et SPIRINA A.P. -
Gigina i Sanit., 13, 42, (1948)
- 390 - SOLTYS A. -
Ber. Deutsch. Chem. Ges., 66 B, 762, (1933)
- 391 - SOLTYS A. et WALLENFELS K. -
Ber., 69 B, 811, (1936)
- 392 - STARKE J. -
Bull. Ac. Roy. de Belg., 3, 379, (1901)
- 393 - STURCKÖW B. et LÖW I. -
Entomol. Exptl. Appl., 4, 133, (1961)
- 394 - SUVOROV N.N. -
Med. Prom. SSSR, 10, 22, (1956)
- 395 - SUVOROV N.N., SOKOLOVA L.V. et MOROZOVSKAYA L.M. -
URSS, 110 656, (1958)
105 998, (1957)
- 396 - SUVOROV N.N. et YAROSLAVTSEVA Z.A. -
Med. Prom. SSSR, 12, 7, (1958)
- 397 - SUVOROV N.N., SOKOLOVA L.V. et MOROZOVSKAYA L.M. -
Khim Nauka i Prom., 3, 281, (1958)
- 398 - SUVOROV N.N., SOKOLOVA L.V. et MOROZOVSKAYA L.M. -
Zhur. Obschchei Khim., 29, 329, (1959)
- 399 - SUVOROV N.N. et MOROZOVSKAYA L.M. -
Zhur. Obschchei Khim., 30, 2062, (1960)
- 400 - SUVOROV N.N. et MOROZOVSKAYA L.M. -
Med. Prom. SSSR, 14, 31, (1960)
- 401 - SYHORA K. et HERMANEK S. -
Czech., 96 718, (1960)
- 402 - SYHORA K., VYBIRAL Z., CEKAN Z. et PER R. -
Czech., 96 169, (1960)

- 403 - SZASZ K., GRACZA L. et LORINCZ C. -
Acta. Pharm. Hung., 31, 211, (1961)
- 404 - SZENDEY G. -
Ann. Pharm., 290, 563, (1957)
- 405 - SZPILFOGEL S. -
Helv. Chim. Acta., 34, 843, (1951)
- 406 - TAYLOR D.A.H. -
J. Chem. Soc., 4216, (1958)
- 407 - THOMAS Ch. -
Thèse Pharm. Paris, (1933)
- 408 - TOLDY L. -
Act. Chim. Acad. Sci. Hung., 16, 403, (1958)
- 409 - TOMOVA M. -
Farmatsiya (Sofia), 12, 37, (1962)
- 410 - TOMOVA M. -
Planta Med., 12, 543, (1964)
- 411 - TSCHESCHE R. -
Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe, 12, 131, (1955)
- 412 - TUKALO E.A. -
Sbornik Nauch Trudov Dnepropetrovsk Med. Inst., 1, 347,
(1956)
- 413 - TUKALO E.A. -
Sbornik Nauch Trudov Dnepropetrovsk Med. Inst., 1, 351,
(1956)
- 414 - TUKALO E.A. -
Sbornik Nauch Trudov Dnepropetrovsk Med. Inst., 6, 377,
(1958)
- 415 - TURAPIN M.L. -
Gigiena i Sanit., 2, 40, (1951)
- 416 - TUSZON P. -
Naturwiss., 43, 198, (1956)
- 417 - TUSZON P. et KISS Z. -
Acta. Chim. Acad. Sci. Hung., 12, 31, (1957)

- 418 - TUSZON P. et KISS Z. -
Acta. Chim. Acad. Sci. Hung., 28, 151, (1958)
- 419 - TUTIN F. et CLEWER H.W.B. -
J. Chem. Soc., 105, 559, (1914)
- 420 - UHLE F.C. et JACOBS W.A. -
J. Biol. Chem., 160, 243, (1945)
- 421 - UHLE F.C. -
J. Am. Chem. Soc., 75, 2280, (1953)
- 422 - UHLE F.C. -
J. Am. Chem. Soc., 76, 4245, (1954)
- 423 - UHLE F.C. et MOORE J.A. -
J. Am. Chem. Soc., 76, 6412, (1954)
- 424 - UHLE F.C. -
J. Am. Chem. Soc., 83, 1460, (1961)
- 425 - UHLE F.C. -
J. Org. Chem., 27, 656, (1962)
- 426 - VALENTIN H. -
Pharm. Zent., 74, 611, (1933)
- 427 - VELDSMANN D.P., LOUW P.G.J. -
J. South-African Chem. Inst., 2, 119, (1951)
- 428 - VOTOCEK et VONDRACEK R. -
Ber., 36, 4372, (1903)
- 429 - WACKENRODER H. -
Arch. Pharm., 33, 60, (1843)
- 430 - WELLS A.A. et REEDER G.S. -
Chem. News., 96, 199, (1907)
- 431 - WIERZCHOWSKI P. et WIERZCHOWKA Z. -
Chim. Anal. (Varsovie), 6, 579, (1961)
- 432 - WILLIMOTT S.G. -
Analyst., 58, 431, (1933)

- 433 - WINDAUS A. -
Ber. d. Chem. Ges., 42, 238, (1909)
- 434 - WITTMAN -
Monatsh. f. Chem., 26, 445, (1905)
- 435 - WOLFF -
Vierteljahrsschrift für praktische Pharmazie -
Bd II - München 1853
- 436 - WOLF M.J. et DUGGAR B.M. -
J. Agr. Research, 73, 1, (1946)
- 437 - WOTHTSCHALL E. -
Teischer F. Wiss Mik., 5, 19, (1889)
- 438 - YOSHIMURA K. -
Biochem., 274, 408, (1934)
- 439 - ZEIFMAN V.I. -
Med. Prom. SSSR, 14, n° 8, 24, (1960)
- 440 - ZEISEL et WITTMANN -
Ber., 36, 3554, (1903)
- 441 - ZEMPLÉN G. et GERECSE A. -
Ber. d. Chem. Ges., 61, 2294, (1928)
- 442 - ZITNAK A. -
Can. J. Biochem. and Physiol., 39, 1257, (1961)
- 443 - ZWENGER C. -
Ann. Chem. Pharm., 109, 244, (1859)
- 444 - ZWENGER C. et KIND A. -
Ann. Chem. Pharm., 118, 129, (1861)

T A B L E D E S M A T I E R E S

INTRODUCTION

1

PREMIERE PARTIE

ETUDE DES REACTIONS ENTRE LES COLORANTS DERIVES
DE LA PHENOLSULFONEPHTHALEINE ET LES ALCALOIDES
APPLICATION AU DOSAGE DE CES DERNIERS

5

CHAPITRE I - ETUDE DE LA PRECISION ET DE LA
SPECIFICITE DES DOSAGES PROTOMETRIQUES

A - <u>Introduction</u>	6
B - <u>Solvants peu dissociants</u>	7
§ I - Choix du réactif titrant	8
§ II- Choix de l'indicateur coloré	9
a) Influence de l'indicateur sur la précision du dosage	10
b) Influence de l'indicateur sur la spécificité du dosage	17
§ III - Choix du solvant	22
a) Influence du solvant sur la précision du dosage	24
b) Influence du solvant sur la spécificité du dosage	24
C - <u>Solvants dissociants</u>	26
§ I - Choix du réactif titrant	28
§ II - Choix de l'indicateur coloré	31
a) Influence de l'indicateur sur la précision du dosage	31
b) Influence de l'indicateur sur la spécificité du dosage	32

	Pages
§ III - Choix du solvant	33
a) Influence du solvant sur la précision du dosage	33
b) Influence du solvant sur la spécificité du dosage	37
D - <u>Choix d'une méthode de microdosage pro-</u> <u>tométrique des alcaloïdes dans un ex-</u> <u>trait végétal, en présence d'un indi-</u> <u>cateur coloré</u>	39
§ I - Choix du solvant	39
§ II - Choix de l'indicateur	39
 <u>CHAPITRE II - ETUDE QUALITATIVE DES REACTIONS</u> <u>ENTRE ALCALOIDES ET COLORANTS DERIVES DE LA</u> <u>PHENOLSULFONEPHTHALEINE</u>	 42
A - <u>Les substances réagissantes</u>	42
I - Les colorants	42
II - Les alcaloïdes	43
III - Les solvants	44
B - <u>Les réactions</u>	44
I - Expériences de base	45
II - Etude spectrophotométrique	46
C - <u>Essai d'interprétation</u>	
 <u>CHAPITRE III - ETUDE QUANTITATIVE DES REACTIONS</u> <u>EN MILIEU PEU DISSOCIANT - PRINCIPE DE LA METHODE</u>	 56
A - <u>Etude des réactions dans un solvant inerte</u>	57
a) Les réactions	57
b) Etude théorique des courbes	63

c) Influence des impuretés sur les réactions dans un solvant inerte	76
α - Influence des impuretés acides	77
β - Influence des impuretés basiques	83
B - <u>Etude des réactions dans un solvant non dissociant actif</u>	87
I - Solvant acide	87
a) Les réactions	88
b) Applications pratiques	91
II - Solvant basique	94
a) Les réactions	94
b) Applications pratiques	100
III - Solvant à la fois acide et basique	102
 <u>CHAPITRE IV - ETUDE QUANTITATIVE DES REACTIONS EN MILIEU PEU DISSOCIANT - RESULTATS EXPERIMENTAUX</u>	 104
A - <u>Description des techniques employées</u>	104
1) La verrerie	104
2) Les substances réagissantes	105
a) Les solvants	105
b) Le colorant	109
c) L'alcaloïde	109
3) Le mode opératoire	109
 B - <u>Courbes expérimentales obtenues dans différents solvants</u>	 110
I - Solvants peu dissociants inertes	110
1 - Benzène	110
2 - Chlorobenzène	112
3 - Chloroforme pur	113
4 - Chloroforme R.P.	116

II - Solvants peu dissociants actifs	118
1 - Ether éthylique	118
2 - Tétrahydrofuranne	120
3 - Dioxanne	123
4 - Méthylal	125
5 - Acétate d'éthyle	127
6 - Salicylate de méthyle	129
7 - Solvant de GYENES	131

<u>CHAPITRE V - CONSTRUCTION D'UNE ECHELLE UNIQUE</u> <u>D'ACIDITE-BASICITE DES ALCALOÏDES ET DES COLO-</u> <u>RANTS DERIVES DE LA PHENOLSULFONEPHTHALEINE EN</u> <u>MILIEU PEU DISSOCIANT</u>	134
---	-----

A - <u>Principe de la détermination des pK</u>	134
a) Combinaison du colorant acide HC avec une base B	134
b) Combinaison compétitive du colorant acide HC et d'un acide non coloré HA vis-à-vis d'une même base forte B	136
B - <u>Application aux colorants dérivés de</u> <u>la P.S.P. et aux alcaloïdes</u>	139
I - Δ pK entre fonctions "acide fort" C _I des différents colorants	139
II - Δ pK entre fonctions "acide fai- ble" des différents colorants	144
III - Δ pK entre les deux fonctions acides d'un même colorant	147
IV - pK entre alcaloïdes et fonction acide faible des colorants	149
C - <u>Construction de l'échelle unique</u>	150

<u>CHAPITRE VI - ETUDE DES METHODES DE DOSAGE DES</u> <u>ALCALOIDES A L'AIDE DES COLORANTS DERIVES DE LA</u> <u>PHENOLSULFONEPHTHALEINE EN MILIEU PEU DISSOCIANT</u>	151
--	-----

A - <u>Dosage volumétrique</u>	151
a) Précision et sensibilité du dosage	151
b) Spécificité du dosage	151
c) Comparaison avec les autres dosages protométriques des alcaloïdes	156
B - <u>Dosage colorimétrique</u>	159
a) Précision et sensibilité du dosage	159
b) Spécificité du dosage	163
c) Comparaison avec les autres dosages colorimétriques des alcaloïdes ba- sés sur l'emploi de colorants acides	163

<u>CHAPITRE VII - ETUDE DES DOSAGES DANS LES SOLVANTS</u> <u>DISSOCIANTS</u>	165
---	-----

I - <u>Etude des réactions</u>	165
II - <u>Applications aux dosages</u>	170
a) Dosage volumétrique	170
b) Dosage colorimétrique	172

DEUXIEME PARTIE

<u>ETUDE DES VARIATIONS DU TAUX DE GLUCO-ALCALOIDES</u> <u>DANS DIVERS SOLANUM A L'AIDE DU BLEU DE BROMOPHENOL</u>	174
---	-----

<u>INTRODUCTION</u>	175
---------------------	-----

	Pages
<u>CHAPITRE I - DOSAGE DES GLUCO-ALCALOIDES TOTAUX</u>	177
I - <u>Dosage des gluco-alcaloïdes purs</u>	177
a) Etude des différentes méthodes	177
b) Etude du dosage volumétrique par le bleu de bromophénol	181
II - <u>Etude de l'extraction quantitative des gluco-alcaloïdes à partir d'un échan- tillon végétal</u>	183
A - <u>Etude bibliographique</u>	184
B - <u>Etude expérimentale</u>	187
1 - Possibilité d'hydrolyse	188
2 - Choix du solvant d'extraction	189
3 - Choix de la méthode de puri- fication	191
III - <u>Méthode d'extraction adoptée pour notre étude</u>	196
IV - <u>Application à l'étude des variations du taux des gluco-alcaloïdes dans di- vers Solanum</u>	199
a) Récolte des échantillons	199
b) Technique du dosage	201
c) Résultats	203
d) Essai d'interprétation des résultats	204
<u>CHAPITRE II - DOSAGE DES GLUCO-ALCALOIDES APRES SEPARATION</u>	206
A - <u>Etude de quelques méthodes de séparation</u>	206

	Pages
B - <u>Etude de la chromatographie sur papier</u>	209
I - Chromatographie qualitative	209
II - Chromatographie quantitative	213
III - Résultats	216
a) Résultats qualitatifs	216
b) Résultats quantitatifs	220

<u>CONCLUSION</u>	222
-------------------	-----

<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	
----------------------	--

